FAMPHLET Coll.

Jean MICHALESCO-SORIN

Ingénieur diplômé de l'Institut Agricole
de l'Université de Nancy

Docteur ès Sciences

CONTRIBUTION

A LA

PLASMOLYSE DE LA CELLULE VÉGÉTALE

SOUS

L'Action des Solutions de Sels de Cuivre

Avec 7 Planches hors-texte

NANCY
ANCIENNE IMPRIMERIE VAGNER
3, Rue du Manège, 3

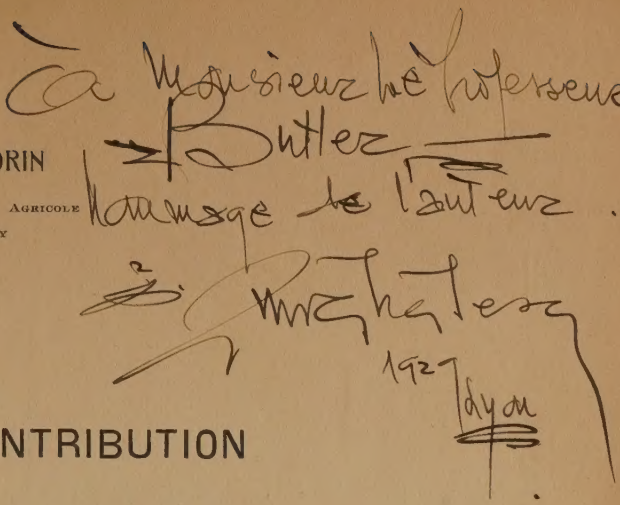
1928

10 MAI 1930

Jean MICHALESCO-SORIN

INGÉNIEUR DIPLOMÉ DE L'INSTITUT AGRICOLE
DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

DOCTEUR ÈS SCIENCES



CONTRIBUTION

A LA

PLASMOLYSE DE LA CELLULE VÉGÉTALE

SOUS

L'Action des Solutions de Sels de Cuivre

Avec 7 Planches hors-texte

NANCY
ANCIENNE IMPRIMERIE VAGNER
3, Rue du Manège, 3

1928

A SON EXCELLENCE

LE DOCTEUR CONSTANTIN ARGINTOIANO

Ministre de l'Agriculture de Roumanie

Hommage profondément respectueux

et

témoignage de vive reconnaissance

A

MONSIEUR EDMOND GAIN

Professeur à la Faculté des Sciences de Nancy,

Directeur de l'Institut Agricole

Témoignage d'affectueuse reconnaissance.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

PREMIÈRE THÈSE

CONTRIBUTION

A LA

PLASMOLYSE DE LA CELLULE VÉGÉTALE

SOUS

L'Action des Solutions des Sels de Cuivre

CONTRIBUTION

A LA

PLASMOLYSE de la CELLULE VÉGÉTALE

SOUS

L'Action des Solutions des Sels de Cuivre

PAR

Jean MICHALESCO-SORIN

INTRODUCTION

L'étude de la toxicité des sels de cuivre chez les végétaux présente un triple intérêt : au point de vue de la physiologie végétale, de la physiologie générale et, jusqu'à un certain point, de la pratique agricole. Ce problème des plus vaste et des plus complexe, par l'enchevêtrement des phénomènes qu'il embrasse, a suscité un nombre considérable de recherches, et la question n'est guère élucidée.

Leur coordination reste difficile, car les botanistes et les chimistes impriment leurs caractères différents à la manière même dont ils envisagent ce vaste problème, selon que, naturalistes, ils cherchent

« *in situ* » à voir les effets directs de l'intoxication cuprique et les réactions qu'elle détermine ou que, chimistes, ils tendent à reproduire « *in vitro* » l'œuvre de la nature vivante. On a esquissé diverses théories de l'intoxication, mais toute théorie doit en premier lieu satisfaire à deux postulats fondamentaux; elle doit donner une explication des faits connus et permettre par induction d'en expliquer d'autres que l'expérience peut susciter. Expérimentalement, nous avons observé comment se comporte le contenu de la cellule en présence de divers sels de cuivre, nous avons recherché les lois générales qui régissent l'action de ces sels sur la plasmolyse de la cellule de :

Spirogyra mirabilis. — Hassal-Kütz;
Spirogyra orbicularis. — Hassal-Kütz;
Spirogyra flavescens. — Hassal-Kütz;
Spirogyra communis. — Hassal-Kütz;

sur la cellule de l'épiderme interne de la feuille d'*Allium cepa*, Linné sur la cellule épidermique de la feuille de *Vitis vinifera*, Linné; sur la cellule des écailles auxiliaires d'*Elodea canadensis*, Rich, et sur la bractée des inflorescences mâles d'*Aucuba Japonica*. De telles recherches pourraient naturellement être continuées sur d'autres sujets, en variant les conditions expérimentales. Nous avons borné notre travail, en cherchant les actions des solutions hypertoniques des sels de cuivre, sur la cellule vivante ou fixée, c'est-à-dire, sur l'unité morphologique et physiologique de la vie.

Les études chimiques et physiques de la plasmolyse ne doivent pas être négligées, lorsqu'on aborde l'étude de la toxicité; mais elles sont bien loin d'avoir la fécondité de l'étude cytologique, et par conséquent, doivent être tenues au second plan. Dans ce qui suit, nous les verrons surtout apparaître comme accessoires pour expliquer certains faits de la marche de la plasmolyse, nos préoccupations d'ordre cytologique étant le sujet principal.

Huppé, en 1896, après ses fructueuses recherches, a formulé une loi d'une portée biologique générale : chaque corps qui a une certaine concentration, tue le protoplasma, en moindre quantité arrête seulement son développement, et en quantité encore moindre agit au contraire comme irritatif ou, pour mieux dire, « comme stimulant », « sur les fonctions vitales » — c'est justement le cas des sels de cuivre, jusqu'à un certain point.

Wurmser, Girard et Li Shon Houa, ont montré que la diffusion peut se faire grâce à l'existence des membranes polarisées, car certains des principes utiles de la nutrition agissent avec une énergie, du même ordre de grandeur que celle des toxiques les plus puissants. On pourrait dire que le laboratoire chimique de la cellule est formé de différents degrés, au plus bas se trouvent les agents communs pour toutes les cellules, et ce sont eux qui provoquent les manifestations élémentaires végétatives de la vie; en haut nous trouvons le chimisme complexe de la spécificité propre de l'espèce; ce n'est là qu'un aspect, mais particulièrement important, de l'essentielle

difficulté de la chimie de la vie. Car entre la structure des solides et celle des liquides, il n'y a qu'une question de degré, tout dépend de la consistance du corps ; la différence réside en ce que la molécule présente un mouvement d'autant plus faible que le corps est plus consistant. Une simple solution présente déjà une certaine structure moléculaire, entre la structure de la solution d'un sel et celle d'un sel solide, la différence de groupement consiste en ceci, que par suite d'un vif mouvement moléculaire dans le liquide, les molécules sont continuellement arrachées de ce groupement et déplacées par d'autres, de telle sorte que la structure se détruit et se reforme sans cesse, tandis que, dans les corps solides où le mouvement moléculaire est moins grand, la structure persiste longtemps sans altérations.

Dans la structure vivante, le continuel échange de molécules qui régit la matière n'empêche nullement l'existence d'une forme durable, parfois même très complexe, c'est comme une flamme qui peut avoir une forme constante, bien que ce ne soit pas les mêmes molécules qui, dans les instants successifs, déterminent cette forme. Il s'établit, vers les différentes parties de la cellule, des courants spéciaux de matière qui maintiennent la forme établie, mais, si ces courants se modifient dans leur direction, ou dans la composition de leurs particules, la forme de la cellule change, et nous assistons à un développement des cellules dans lesquelles les échanges ont subi un trouble irréparable. Ces cellules ne parviennent plus à régénérer les parties perdues, tout en étant capables

de demeurer en vie pendant longtemps encore, dans certaines circonstances. Elles ne peuvent plus désormais remplir leur rôle dans la vie de la plante.

Dans ce travail, nous avons repris l'étude d'un certain nombre de problèmes contreversés. Laissant de côté les points que nous avons reconnus exacts, nous ne nous sommes appesantis que sur les questions nouvelles ou litigieuses, afin de rendre cet exposé plus clair, nous n'avons retenu que les parties qui ont, ou bien posé une question importante, ou bien résolu un problème de quelque généralité.

Notre exposé comprend les parties suivantes :

1° Historique des travaux antérieurs sur la plasmolyse de la cellule;

2° Technique employée dans nos recherches et influence des fixateurs sur le chondriome;

3° Etude expérimentale de la plasmolyse due aux dissolutions des sels de cuivre sur des végétaux.

Divers : *Spirogyra, Allium cepa, Vitis vinifera,* écailles axilaires d'*Elodea Canadensis;*

4° Conclusions générales.

Ces recherches ont été faites au Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences de Nancy, sous la direction de M. le Professeur Edmond Gain, Directeur de l'Institut Agricole, où nous avons poursuivi notre formation agronomique et scientifique.

Avant d'exposer les résultats de nos recherches, nous tenons tout d'abord à remercier notre excellent Maître, M. le Professeur Gain, pour les conseils qu'il a bien voulu nous donner, et pour l'affectueuse bienveillance dont il n'a cessé d'entourer nos efforts.

Nous adressons également nos plus sincères remerciements à M. Démètre Caruntu, *Directeur général des Fermes de l'Etat*, auquel nous devons l'appui moral et la possibilité de pouvoir finir cette étude.

Nous exprimons de même à MM. le Professeur Démètre Busoicesco; F. Amarasco, *Directeur des Fermes de l'Etat;* Georgian, *Directeur de la Viticulture;* S. Cormazan, *Inspecteur Général;* Docteur Andronesco, *Inspecteur Général;* Professeurs N. Dumitresco et C. Arian, notre gratitude pour leur appui moral.

Nous n'aurions garde d'oublier M. M. Lenoir, Assistant de M. le Professeur Gain, pour les renseignements cytologiques et les conseils qu'il a voulu nous fournir.

HISTORIQUE

Nous exposerons d'abord, en un historique succinct, les travaux qui ont déjà été faits dans le même ordre d'idées, car les différents problèmes qui se présentent au sujet de la plasmolyse de la cellule, et qui sont en étroite liaison avec elle, ont été abordés par un assez grand nombre de chercheurs, mais toujours d'une manière accessoire, au cours d'un travail sur une autre question. Il en résulte que les notions acquises sur ce sujet sont décousues et très souvent contradictoires ; une mise au point a donc semblé nécessaire. Nous avons cherché, dans cet historique, à réaliser cette liaison, et ceci par deux moyens. Le premier a consisté à réunir toutes les données certaines en un ensemble cohérent, car on est en droit d'affirmer que la plasmolyse de la cellule manque de clarté; nous n'avons pas pu trouver un ouvrage donnant un exposé d'ensemble de la question. Le second moyen a consisté à éliminer des détails inutiles et surtout des doctrines périmées.

En étudiant en premier lieu la question de la nature ou de l'individualité des parois périplasmiques: Pringsheim, H. de Vries, Pfeffer, Chodat, Bourbier, Kuster, Guillermond, *pour aborder en second lieu le sujet des communications cytoplasmiques intercellulaires :* Pringsheim, Kohl (*plasmodesmes*), Kienitz, Gerloff, Tswett, Gardiner, Kunster, Klebbs, Chodat, Bourbier, Guillermond, *et le problème sur l'origine de la formation des parois périplasmiques :* Pringsheim, Pfeffer, Towset, H. de Vries, Bokorny, Klebbs, Correns, Stassburger, Went, Chodat, Bourbier, Boulet, Seifriz, Kuster, Guillermond, *ou périvacuolaires :* H. de Vries (*tonoplaste*), Pfeffer, Klebbs, Correns, Went, Chodat, Bourbier, Boulet, Towset, Bokorny, Seifriz, Kuster, Guillermond; *et l'autonomie de ces membranes :* H. de Vries, Towset, Chodat, Bourbier, Klebbs, Guillermond, *ainsi que le problème de l'origine de la formation des vacuoles;* Kohl, H. de Vries, Kunster, Guillermont, *et celui de l'isolement de la vacuole durant la plasmolyse;* H. de Vries, Guillermond, *de même que celui des changements de la structure apparente du cytoplasme :* Schwartz, Matruchot, Molliard, Guillermond, *et l'isolement de la vacuole grâce à son tonoplaste durant la plasmolyse;* H. de Vries, Guillermond, *ainsi que la question de la formation des figures myéliniques dues à la décomposition du cytoplasme périvacuolaire :* Klemm, Guillermond; *de même que le phénomène de la nécrobiose et nécrose du noyau :* Pfeffer, Schwartz, Nêmec, Matruchot, Guttenberg, Lewitsky, Guillermond.

Beaucoup de chercheurs ont dû se servir comme artifice dans leurs recherches de la plasmolyse de la cellule due aux agents chimiques. C'est ainsi que PRINGSHEIM, au sujet d'une discussion classique sur l'*utricule primordial* de MOHL, a dû se servir comme artifice de la plasmolyse.

En travaillant sur les Algues et sur les cellules de *Riccia*, et en les traitant par des solutions salines et par des acides faibles, il avait constaté que le cytoplasma modifie son apparence par une contraction, et que dans ce stade il quitte les parois cellulaires, tout en restant en contact avec elles par de fins trabécules plus ou moins nombreux, et il est arrivé à cette conclusion : « Si l'on traite des cellules dans lesquelles l'utricule primordial apparaît le plus nettement, par des acides très étendus ou par des solutions très faibles d'eau sucrée, ou de sel ordinaire (Na Cl), le plasma se contracte et l'utricule primordial apparaît peu à peu.

Ces trabécules, par suite de l'action du milieu plasmolysant, s'amincissent de plus en plus, et, dans un dernier stade, quittent les parois cellulaires tout en laissant collées contre elles des portions protoplasmiques. *Finalement, le protoplasma est entouré par une couche limite qui semble constituer une membrane.* (Voir fig. 26-27, tab. III, et fig. 2, 5, 24, 26, tab. IV.)

KOHL, en travaillant sur le même sujet — communications intercellulaires — ainsi que sur le comportement de la vacuole durant le métabolisme cellulaire, a dû employer comme artifice la plasmolyse; il a

traité son matériel d'expérience (Algues filamenteuses des genres *Spirogyra* et *Cladophora*), par des solutions hypertoniques salées ou sucrées. Il n'admet pas les conclusions de PRINGSHEIM, au sujet de la durée des communications intercellulaires cytoplasmiques dans les phases de la plasmolyse. Il est arrivé à la conclusion que, même dans le stade ultime de la plasmolyse, les trabécules continuent à faire la liaison entre le cytoplasme affecté par le milieu plasmolysant et les parois cellulaires; en outre, les dits trabécules paraissent correspondre à ceux de la cellule voisine. Ces filets cytoplasmiques ont été considérés par KOHL, comme des communications cytoplasmiques intercellulaires « *plasmodesmes* ».

KIENITZ, GERLOFF et GARDINER, en travaillant sur du matériel fixé, se sont efforcés de mettre en évidence les communications protoplasmiques en utilisant la plasmolyse et les colorants appropriés.

PFEFFER a été un des premiers qui aient travaillé sur l'origine de la membrane périplasmique et périvacuolaire, ainsi que sur le comportement du noyau en milieu hypertonique; et il a employé comme matériel le *Chondrioderma difforma*. Ses conclusions sont les suivantes : Il ne voit pas dans la membrane plasmique

---

PRINGSHEIM. — Ueber der Bau die Bildung der Pflanzenzelle. *Berlin*, 1854.

KOHL. — Protoplasmaverbindung bei Algen. *Ber. der Deutsch. Bot. Gesell. IX*, p. 9, tab. I.

KIENITZ-GERLOFF. — *Bot. Zeit.* 1891.

GARDINIER. — *Royal Soc. Proceed.*, n° 229, 1883. *Ibid.*, p. 100, 1897.

un organe de la cellule. Il reconnaît ne rien savoir sur son épaisseur; tout protoplasma est capable de reconstituer la membrane plasmique. Il ne considère pas cette couche limite comme une simple expression de la tension superficielle, mais cette dernière serait active dans le phénomène, car il se pourrait que, par des actions moléculaires semblables, ou par son contact avec un autre milieu, la substance de la zone limite soit rendue insoluble; en outre, chaque morceau cytoplasmique peut reconstituer cette couche limite, avec ses propriétés générales diosmotiques. Donc PFEFFER considère la membrane périplasmique simplement comme un produit direct de l'action du milieu sur le plasma. De même, il n'a pas admis dans ses interprétations que les parois périplasmiques et périvacuolaires sont des organes définis et différenciés de la cellule, mais qu'elles sont des formations transitoires, dues en partie à la tension superficielle. Il a entamé des recherches en montrant que le noyau, isolé du cytoplasme en milieu hypertonique, conserve sa forme et son aspect sans altération. En ce qui concerne la vacuole, PFEFFER n'admet pas les conclusions de H. DE VRIES; il a montré expérimentalement que des vacuoles peuvent apparaître dans le cytoplasme sous l'influence de divers agents physico-

---

PFEFFER. — Pflanzenphysiologie, *2e édition*, p. 91.

— Zur Kentniss der Plasmahaut und der Vacuolen nebst Bemerkungen über den Aggregatzustand des Protoplasma und über osmotische Vorgange. *Abhandl. der math. phys. Classe der Konig. Sachsichen Gesell. der Wissench.* 1890.

chimiques; donc, par cette affirmation, PFEFFER a été un des partisans de la formation *de novo* de la vacuole dans la cellule. TOWSEND, élève de PFEFFER, a défendu dans ses recherches, l'autonomie de la membrane périplasmique, sans chercher à expliquer l'affinité qui existe entre la membrane périplasmique et le plasma granuleux. Il a admis que les parois périplasmiques et périvacuolaires sont des formations transitoires, ayant comme origine une tension superficielle.

H. DE VRIES, en employant comme objet d'étude les cellules de *Drosera rotundifolia*, a décrit pour la première fois la plasmolyse, mais dans ses recherches, il ne fait nullement mention des changements que subissent le cytoplasme et le noyau durant le phénomène. Il considère les parois périplasmiques et périvacuolaires (*tonoplaste de H. de Vries*) comme des organes distincts, définis, différenciés et permanents de la cellule. En outre, il décrit pour la première fois la fragmentation de la grande vacuole par voie de bourgeonnement, durant le phénomène; de même il décrit l'isolement de la vacuole dans le terme final de la plasmolyse. En ce qui concerne la vacuole, DE VRIES la considère comme un organite propre et

---

TOWSEND. — Einfluss des Zellkerns auf die Bildung der Zellhaut. *Ber. der Kügk. Sachs Gesel. der Wissenchaften zu Leipzig.* 1895, déc. 7.

H. DE VRIES. — Ueber die Aggregation in Plasma von Drosera rotundifolia. *Bot. Zeit.* 1886.

— Plasmotische Studien über die Wand der Vacuolen. Jahrb. *für Wis. Bot.* 1885.

permanent de la cellule qui se forme par division et qui ne peut pas naître « *de novo* » dans le cytoplasme.

Tswett, en travaillant sur les cellules d'*Elodea Canadensis*, a défendu l'idée de l'autonomie de la membrane plasmique, sans chercher à expliquer l'affinité qui existe entre cette membrane et le plasma granuleux. Il a admis dans ses recherches les hypothèses de H. de Vries, sur la nature d'organes bien définis et différenciés des parois périplasmiques et périvacuolaires; en outre, il a démontré l'existence d'une membrane plasmique, différenciée aussi bien vers l'extérieur que vers l'intérieur; malheureusement, il ne s'est pas rendu compte dans ses travaux, de la réelle disposition de la couche limite cytoplasmique et du rôle qu'elle remplit durant le phénomène de la plasmolyse; car, toutes ses hypothèses reposent sur l'idée que le protoplasma fonctionne comme une vésicule libre dans une boîte cellulosique (c'est d'ailleurs la conception classique). Il a étudié également le sujet sur les communications cytoplasmiques, les plasmodesmes de Kohl. En ce qui concerne la vacuole, il a décrit le phénomène de son isolement durant la dernière phase de la plasmolyse, isolement sur lequel Tswett s'est appuyé pour démontrer que la paroi périvacuolaire est un organe différencié et

---

Tswett. — Études de Physiologie cellulaire. *Arch. des Sci. Phys. et Nat.*, 1896. IV per., tome II.

— Sur la membrane périplasmique. *Journ. de Botanique*, 1898.

permanent de la cellule. En outre, il a étudié les modifications que subissent les chloroplastes sous l'influence de milieu plasmolysant.

Bokorny a admis dans ses conclusions les hypothèses de Pfeffer, sur la nature transitoire des parois périplasmiques et périvacuolaires et sur l'origine de la formation des vacuoles.

Kunstler, en étudiant la plasmolyse sur les cellules épidermiques d'*Allium cepa*, a signalé que, tout au début de la plasmolyse, c'est-à-dire tant que la cellule reste vivante, si l'on change de milieu en passant de l'hypertonicité à l'isotonicité, les petites vacuoles qui ont pris naissance durant le phénomène, s'hydratent et retournent dans un stade ultérieur à la vacuole mère qui leur a donné naissance.

Klebbs, en travaillant sur les cellules de *Vaucheria*, s'est efforcé de mettre au point le problème très controversé de la nature des parois périplasmiques, et le rôle que doivent jouer les *plasmodesmes* de Kohl. Ses expériences ont été répétées et vérifiées par Strasburger. De l'exposé de ses expériences

---

Bokorny. — Ueber Aggregation. *Jahrb. für Wissensch.* Bot. 1889.

Kunstler. — De la constitution du Protoplasma. *Bull. Scient. du Nord,* 1882.

Klebbs. — Beitrage zur Physiologie der Pflanzenzelle. *Untersuchungenbot. nat. Tübingen,* 1888.

Strassburger. — Die pflanzlichen Zellhaüte. *Pringsheims Jahrbücher* XXXI, p. 595.

— Ueber Cytoplasmastrukturen. *Jahrb. Wiss. Bot.* 1897.

— Ueber Plasmaverbindungen pflanzlichen Zellen. *Jahrb. Wiss. Bot.*, 1901.

se détachent nettement les idées suivantes : Les morceaux quelconques de plasma sont capables de s'arrondir, en produisant immédiatement une nouvelle couche limite (*Hautschicht*) ; c'est-à-dire que le protoplasma peut se transformer, dans certains cas, en une membrane, production instantanée et spontanée. Dans le cas spécial de la plasmolyse, cette membrane limite serait une excrétion plasmique à la surface du plasma. Une telle conception de l'origine et de la nature des parois périplasmiques du savant histologiste de Bonn contredit l'hypothèse hardie de H. de Vries et de son école sur ce problème. Strasburger a admis la théorie de Pfeffer, sur la nature des parois périplasmiques et périvacuolaires. En ce qui concerne les fins trabécules qui, durant la plasmolyse, relient le protoplaste contracté aux parois cellulaires, Strasburger admet l'hypothèse suivante : Si certains de ces fins filaments sont dûs à une adhérence de la masse cytoplasmique avec la membrane, d'autres, au contraire, sont des *plasmodesmes* de Kohl.

Schwartz se borne à constater l'apparition, durant le phénomène de la plasmolyse, d'une structure alvéolaire du cytoplasme; en outre ses recherches ont porté sur le phénomène de la déshydratation du noyau pendant la plasmolyse.

Schwartz. — Die Morph. und Chemie Zusammen sch. der Protoplasma. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen,* 1887.

Nêmec a étudié les cellules soumises à la déshydratation dans le milieu hypertonique, puis placées dans l'eau; il a décrit le phénomène d'éclatement du noyau, dû à sa violente réhydratation, dans la dernière phase de la plasmolyse. En outre, il s'est occupé dans ses recherches, de la néoformation des vacuoles en ce qui concerne leur formation, il est partisan de la théorie de Pfeffer.

Des travaux de Correns ressort nettement l'idée qu'il n'est pas possible de détacher morphologiquement et chimiquement les parois périplasmiques et périvacuolaires du reste du cytoplasme.

Klemm a décrit, dans la cellule végétale, la formation des figures myéliniques au sein de la vacuole, et aux dépens du cytoplasme pendant la plasmolyse, sous l'action du milieu nocif. Ces figures présentent une ressemblance frappante avec les *boules sarcodiques* décrites par Dujardin.

Went a admis dans ses recherches, les hypothèses

Nêmec. — Ueber Ausgabe ungeloster Korper in hautmuchatiten Zellen. *Sitz. bom. Ges. Wien,* 1899.

— Das Problem der Befruchtugsvorgange und andere zytologischen Fragen. *Berlin.*

— Sur la néoformation expérimentale des vacuoles dans les cellules entourées d'une membrane. *Sitz. der. Kais. Akad., Wien,* 1906.

Correns. — Ueber vegetablicbe Zellmenbran. *Pringsheim Jahrb. Bd. XXVI,* 1894.

Klemm. — Désorganisationer scheinung der Zelle. *Jahrb. für Wiss. Bot.* 1895.

Went. — Die Vermerhung der normalen Vacuolen durch Theilung. *Jahrb. für Wiss. Bot.,* 1888.

de H. DE VRIES, sur la nature et l'origine des parois périplasmiques et périvacuolaires. En outre, il croit que les parois périplasmiques et périvacuolaires sont des organes différenciés et définis de la cellule. En ce qui concerne l'origine de la vacuole, il s'exprime ainsi : « Toute vacuole dérive de la division d'une vacuole préexistante »; par cette affirmation, WENT est un adepte de la *permanence* de la vacuole.

CHODAT et BOURBIER ont étudié la plasmolyse de la cellule dans les groupes les plus divers, et ils sont arrivés aux conclusions suivantes :

a) Dans les cellules isolées, ou réunies en filaments ou en parenchymes, le protoplasma plasmolysé ne se détache pas complètement de la membrane cellulaire; il reste, pendant un temps variable selon le cas, réuni à la membrane par des filets d'éctoplasma, qui peuvent être plus ou moins nombreux;

b) La formation de ces filets peut s'expliquer, en admettant que l'éctoplasma a une consistance visqueuse et adhère ainsi à la membrane, ou encore que l'éctoplasma, dans sa lamelle limite, passe insensiblement à la membrane et, selon les circonstances, peut donner naissance à de nouvelles lamelles d'apposition, par différenciation, de même qu'il est rejeté dans la production des zoospores ou se transforme en lamelles gélifiées;

c) L'adhérence de l'éctoplasma à la membrane

CHODAT et BOURBIER. — Sur la plasmolyse de la membrane plasmique. *Genève,* 1888.

— Sur la membrane plasmique. *Journal de Bot.,* tome XIII, n° 12, 1889.

explique en partie sa passivité dans le mouvement protoplasmique;

d) La couche ectoplasmique ne saurait, dans les cas habituels, être considérée comme nettement différenciée, comme un organe, une unité de la cellule. De même que, chez beaucoup d'Algues gélifiées, elle passe insensiblement à la membrane, elle est continue avec le plasma granuleux, auquel elle adhère plus fortement qu'à la membrane, ce qui explique son retrait dans la plasmolyse. En outre, ces deux auteurs ont admis les hypothèses de Pfeffer, Bokorny et Strasburger, à savoir, que les parois périplasmiques et périvacuolaires sont des formations transitoires et spontanées dues à la tension superficielle.

De même Boulet a attribué aux parois périplasmiques et périvacuolaires les caractères d'organes bien définis, différenciés et permanents de la cellule. Il admet donc dans ses conclusions les hypothèses de H. de Vries, Went et Tswett. En outre, il a montré que si l'on traite par des acides des cellules plasmolysées dont la vacuole renferme des cristaux, on observe que la membrane périvacuolaire (tonoplaste) se perfore en un point et laisse passer ses cristaux dans le cytoplasma désorganisé.

Matruchot, puis Matruchot et Molliard, en plasmolysant des cellules dans une solution de

---

Boulet. — Sur la membrane de l'hydroleucite. *Rev. Gén. de Bot.* Paris, 1900.

Matruchot. — Sur une structure particulière du protoplasma. *Rev. Gén. de Bot.* Paris, 1900.

Matruchot et Molliard. — Action du gel sur les cellules végétales. *Rev. Gén. de Bot.* Paris, 1902.

glycérine, ont décrit la structure alvéolaire du cytoplasma dans la dernière phase de la plasmolyse; ils ont vu, en outre, que la vacuolisation du noyau aboutit à la formation de vésicules plus ou moins nombreuses et ont observé le déversement du contenu de ces vésicules dans la grande vacuole cellulaire, soit par diffusion, soit par éclatement du noyau. Ils admettent que ces phénomènes nucléaires et cytoplasmiques sont dûs à une séparation de l'eau de constitution du noyau et du cytoplasme de cette eau laquelle se déverserait entre les mailles du cytoplasme, donnant naissance à de petites vacuoles, qui se diffuseraient ensuite peu à peu dans la grande vacuole. En outre, ces deux auteurs ont montré que les phénomènes de *fanaison* déterminent des métabolismes cellulaires pareils à la plasmolyse. Ils n'ont pas abordé dans leurs études, les influences de leur milieu sur le chondriome, car à cette époque, celui-ci était encore inconnu.

Guttenberg, en étudiant l'influence du milieu hypertonique sur certaines galles, a vu le noyau se gonfler par réhydratation dans la dernière phase de la plasmolyse et finir par éclater.

Lewitsky, dans son étude sur les écailles axillaires

Guttenberg. — Beitrage zur physiologische Anatomie der Pilzgaller. *Leipzig,* 1905.

Leewitsky. — Ueber die Chondriosomen in pflanzlichen Zelle. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd XXVIII.* 1921.

— Die Chloroplastenanlagen in lebenden und fixierten Zellen von « Elodea Canadensis ». *Ber. d. Deutsch. Bot. Gest. Bd. XXIX.* 1912.

— Vergleichende Untersuchung über die Chondriosomen in lebenden une fixierten pflanzenzellen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXIX.* 1912.

et les jeunes feuilles d'*Eledoa Canadensis*, a décrit les manifestations des altérations du cytoplasme au contact de l'eau (milieu hypotonique). Le chondriome perd peu à peu sa visibilité et, dans un dernier stade, cesse d'être distinct. Le cytoplasme présente, sous l'action du milieu, une structure alvéolaire artificielle, et LEWITSKY a observé en son sein la formation de petits grains qui accusent une réfringence très marquée et qui, en outre, ont la propriété de brunir, sous l'action de l'acide osmique. Ces éléments, qui paraissent résulter d'une désintégration des mitochondries, et qui correspondent aux physodes de CRATO, constituent, d'après lui, le premier symptôme de la mort de la cellule. En outre, cet auteur a observé, dans une dernière phase, une vacuolisation du noyau.

SEIFRIZ a travaillé sur le problème délicat de la formation des parois périplasmiques et périvacuolaires. Dans son étude, il a séparé de la partie centrale de *Chondrioderma difforma* (Myxomycètes) quelques ramifications. Il constate la formation spontanée d'une couche limite sur la section; il admet les hypothèses de PFEFFER, concernant la formation des parois périplasmiques.

KUSTER, dans ses conclusions, a admis les hypothèses de PFEFFER, CHODAT et BOURBIER, sur la

---

W. SEIPRITZ. — Observations on the structure of protoplasme by Aid microdissection. *Biological Bul.*, t. XXXIV, 1914.

KUSTER. — Zelle und Zellteilung. *Handwoterbuch der Naturwisenschaften*, 1914.

nature et la formation des parois périplasmiques et périvacuolaires.

Guillermond qui, après de Vries, a étudié le problème de la plasmolyse, a complété son étude par ses magistrales recherches cytologiques. Il a pris comme matériel, les cellules épidermiques des pétales de Tulipe, et les cellules épidermiques des bractées et des feuilles d'*Iris Germanica*, et, comme plasmolysant, des solutions hypertoniques de Na. Cl. et de saccharose. On retire de son étude les conclusions suivantes : dans la première phase de la plasmolyse, la cellule réagit contre le milieu en se déshydratant; cette déshydratation correspond à une contraction et, pendant cette phase, la cellule conserve son organisation intime. Cet état peut durer plus ou moins longtemps, mais, lorsque cette déshydratation a dépassé les limites compatibles avec la vie cellulaire, les parois périplasmiques modifient leur structure et deviennent perméables au milieu hypertonique. Par suite de la perméabilité de ces parois, le plasmolysant s'introduit dans le cytoplasme, et l'on constate une réhydratation du cytoplasma et du noyau, bientôt suivie de la distension du cytoplasma. Ceci amène la désorganisation complète de la cellule, puis sa coagulation. Les parois périvacuolaires, qui résistent

---

Guillermond. — Sur les caractères et les altérations du chondriome des cellules épidermiques de la fleur de Tulipe. *Compt. Rend. Ac. des Sc.*, 1917.

— Nouvelles recherches sur les caractères vitaux et sur les altérations du chondriome dans les cellules épidermiques des fleurs. *Compt. Rend. Soc. de Biol.*, 1917.

plus longtemps que le reste des éléments cellulaires, finissent elles-mêmes par être atteintes, et la vacuole se résorbe dans la cavité cellulaire.

Il a admis que pendant la plasmolyse, l'aspect vacuolaire de la cellule est dû à un phénomène d'exosmose consistant en une séparation de l'eau de constitution du cytoplasma, qui se déposerait dans ce dernier sous forme des petites vacuoles, dont le contenu se diffuserait peu à peu dans la vacuole centrale; c'est d'ailleurs, nous l'avons vu, l'opinion de Matruchot et Molliard et de Schwartz.

Guillermond n'a pas admis les hypothèses de H. de Vries, Went et Tswett, sur la formation des parois périvacuolaires et périplasmiques. Par contre, il admet les opinions de Pfeffer, Chodat et Bourbier; c'est-à-dire, la théorie de l'instabilité continue dans la formation de ces parois, qui peuvent se gonfler et se refusionner instantanément, suivant qu'on plasmolyse ou qu'on déplasmolyse la cellule.

Guillermond. — Sur le processus de dégénérescence du chondriome dans les cellules des fleurs pendant la fanaison. *Soc. de Biol.* Paris 1917.

— Sur la plasmolyse des cellules épidermiques de la feuille d'Iris Germanica. *Ac. des Sc.,* 1918.

— Sur la plasmolyse des cellules épidermiques des pétales de la fleur de Tulipe. *Soc. de Biol.* Paris 1918.

— Contribution à l'étude physiologique de la cellule. *Rev. Gén. de Bot.,* 1919.

— Observations sur l'origine de la vacuole. *La cellule,* vol. XXXVI. Louvain, 1914.

— Sur la réversibilité de formes du vacuome, observée au cours de la plasmolyse. *Ass. française pour l'avancement des sciences.* Lyon, 1926.

il considère en ces organes une nature transitoire, résultant d'une modification physique du cytoplasme au contact de l'eau ou une formation due à une tension superficielle. En ce qui concerne les fins filaments qui relient, durant les premières phases de la plasmolyse, le cytoplasme contracté aux parois cellulaires, GUILLERMOND admet les hypothèses de STRASBURGER. Il s'exprime ainsi : « Si un grand nombre des filaments qui relient le protoplaste contracté à la membrane cellulosique sont attribuables à une adhérence du cytoplasme à la membrane (CHODAT et BOURBIER), d'autres sont vraisemblablement des plasmodesmes (KOHL). » L'auteur a observé également le phénomène de l'isolement de la vacuole dans le dernier stade de la plasmolyse observé par DE VRIES et TSWETT. Relativement à l'origine de la formation des vacuoles, GUILLERMOND n'admet pas les hypothèses de H. DE VRIES, WENT et TSWETT, qui considèrent les vacuoles comme des organites permanents de la cellule, naissant par division de vacuoles préexistantes. Il appuie sa négation sur les faits suivants : l'extrême instabilité de la vacuole, la facilité avec laquelle elle se divise pendant la contraction, la fusion rapide des petites vacuoles formées pendant la plasmolyse, lorsqu'on remplace les cellules dans un milieu isotonique, l'émission par le cytoplasme de boules sarcodiques émigrant dans la vacuole et paraissant s'entourer d'une paroi.

Il a admis, à ce point de vue, la doctrine de PFEFFER, à savoir, que la vacuole peut naître « de

novo » dans la cellule. Au point de vue chondriome, Guillermond émet les conclusion suivantes : Tant que la cellule reste vivante, le chondriome ne présente aucune altération, mais il a observé une légère contraction des chondriocontes.

INDICATIONS TECHNIQUES

Les cellules des *Spirogyra*, de même que les cellules épidermiques de la feuille de *Vitis Vinifera* et tout particulièrement celles de la feuille d'*Elodea Canadensis* et celles de l'épiderme interne de la feuille d'*Allium Cepa* se prêtent facilement aux observations et aux investigations vitales.

Grâce à ce matériel, nous avons pu observer et suivre l'évolution de la plasmolyse. Nous avons tenté d'en faire l'étude cytologique, après l'action des dissolutions des sels de cuivre. En outre, nous avons comparé l'aspect de la cellule ainsi plasmolysée, mais vivante, avec la structure obtenue après fixation par les diverses méthodes mitochondriales, qui conservent au cytoplasme et aux organites cellulaires l'aspect qu'ils possédaient sur le vivant. Nous avons tenté d'expliquer toutes les phases du phénomène si complexe de la plasmolyse, en tenant compte tout particulièrement des observations vitales, contrôle nécessaire des résultats obtenus à l'aide des méthodes de fixation et de coloration.

Nous pouvons faire dès le commencement la remarque suivante : nous avons été frappé par le fait qu'en faisant des recherches sur le vivant, la cellule ne se colore pas instantanément, comme nous nous y attendions au premier abord, par les colorants vitaux que nous avons employé. Cependant, la coloration a été possible dans les cellules qui donnaient déjà des signes de perturbation dans leur équilibre osmotique; nous reviendrons, durant notre exposé, sur ce problème de la coloration vitale.

Dans nos recherches, nous avons étudié la plasmolyse due aux dissolutions des sels de cuivre sur la cellule de quatre espèces de *Spirogyres :*

Spirogyra flavescens. — Hassal-Kutz;
Spirogyra mirabilis. — Hassal-Kutz;
Spirogyra orbicularis. — Hassal-Kutz;
et *Spirogyra communis.* — Hassal-Kutz.

De même, nous avons poursuivi nos recherches sur les cellules de l'épiderme interne de la feuille de *Allium cepa* (Liliacée), sur les cellules épidermiques de la feuille de *Vini vinifera* (Ampélidées), et sur la cellule des écailles axillaires d'*Elodea Canadensis* (Hydrocharidacées).

Le milieu plasmolysant a été créé à l'aide de six sels de cuivre d'origine minérale : Sulfate, Carbonate, Sulfate anhydre, Chlorure cuivrique, Chlorure cuivreux et Nitrate, et trois sels d'origine organique : Acétate, Formiate et Oxalate. Tous ces sels ont été

chimiquement purs, exempts de sels parasites dans leur cristallisation (1).

Voici quelques renseignements sur ces sels de cuivre :

1° SO^4. Cu^2. anhydre. N'a pas été étudié en solution;

2° Le Carbonate et l'Hydro-carbonate de cuivre sont insolubles dans H^2O. On considère leurs solutions (très diluées) comme totalement ionisées (2) ionisées et à réaction alcaline (P/h = 8);

3° Formiate de cuivre. Pas de renseignements;

4° Acétate de cuivre. Dissociation, 40 % environ pour 1 mol. dans 64 litres de solution;

5° Sulfate de cuivre. Donne des solutions stables à peine acides;

	Dissociation électrique	A 0°	Pour un équivalent	(1/2 molécule)	Dans
	—	—	—	—	—
V litres	V = 100.000	10.000	1.000	100	50 litres
V litres	V = 99.8	96.7	86.3	63.8	55.7

6° Chlorure cuivreux. Insoluble dans l'eau; soluble dans H. Cl et Am. OH. Instable en solution très diluée;

---

(1) Remarques. — 1° *Les degrés de dissociation peuvent varier non seulement avec les auteurs, mais aussi la méthode de mesure. Ces données proviennent de mesures de conductibilité électrique;*

2° *Les coefficients de diffusion à travers les membranes polarisées sont introuvables actuellement. L'étude générale des facteurs qui régissent le phénomène n'est d'ailleurs qu'à ses débuts.*

7° Chlorure cuivrique. Solutions diluées (M/10) stables. A peine acides. En solution concentrée, donne un complexe (Anion Cu Cl″/4). Coefficient d'ionisation. V = Vol. contenant 1 molécule;

	°/₀ A		
V.	13.8°	et	25°
2.	56.1°		53.0°
8.	71.2°		69.9°
16.	77.1°		75.4°
32.	82.4°		81.0°
128.	90.7°		90.5°

8° Le Nitrate de cuivre comme le Sulfate est stable en solution; la solution est à peine acide.

Degré de dissociation :

1 mol.	dans 100 litres	et 20 litres
	92.24	81.1

*
**

Pour les dissolutions, nous avons procédé de la manière suivante : nous avons fait des solutions mères aux concentrations de : 5 p. 100; 3 p. 100, 2 p. 100, 1 p. 100 et 1 p. 50, et par dilutions successives, nous avons amené ces solutions à la dilution voulue. Les dilutions qui nous ont servi pour créer les divers milieux plasmolysants et sur lesquels nous avons entamé nos recherches, avaient les concentrations suivantes : 5 p. 100, 3 p. 100, 2 p. 100, 1 p. 100, 1 p. 500, 1 p. 1.000, 1 p. 5.000, 1 p. 10.000, 1 p. 50.000, 1 p. 100.000, 1 p. 500.000, 1 p. 1.000.000,

1 p. 10.000.000; comme solvant, nous nous sommes servi de l'eau bien distillée exempte de toute trace de cuivre, nous nous sommes assuré, à l'aide du Ferrocyanure de K. et du réactif de Kestler-Mayer. Pour l'étude de la plasmolyse sur la cellule vivante de la feuille de *Vitis vinifera* et d'*Elodea Canadensis*, nous avons procédé de la manière suivante : nous avons mis quelques gouttes du liquide hypertonique sur une lame, puis nous y avons porté les fragments végétaux qui préalablement ont subi diverses opérations. Tout d'abord, lorsque le matériel permet des observations par transparence (épiderme interne de la feuille de *Allium cepa*), nous avons mis tout simplement la feuille dans le liquide plasmolysant et nous avons fait les observations. Dans d'autres cas, nous avons détaché un fragment d'épiderme, avec une rapidité suffisante pour que le contenu cellulaire ne se plasmolyse pas par dessication, durant l'opération. Cette portion d'épiderme a été montée la face interne en-dessus, pour que l'épaisseur de la cuticule ne gêne pas l'observation, puis nous avons mis quelques gouttes de liquide plasmolysant et nous avons fait nos observations vitales.

***

Dans la technique des colorants vitaux, étant donné la petitesse des organes, l'inconstance des résultats et les altérations qui se produisent et qui sont souvent de l'ordre de celles que produit la plasmolyse, il n'existe pas à notre connaissance de travail de géné-

ralisation bien défini sur la question. Toutes les recherches qui ont été faites dans le domaine complexe de la cytologie préconisent tel ou tel colorant, qui a donné les résultats les meilleurs, suivant les cas particuliers dans lesquels on s'est placé pour faire les recherches.

On reconnaît généralement que ce sont les éléments qui manifestent le moins d'activité cellulaire — dans le sens de la vie — qui se colorent le mieux par les colorants préconisés en cytologie. De nombreuses recherches dans cet ordre d'idées illustrent la cytologie animale et végétale. Cependant, la coloration vitale dans la cellule animale réussit plus facilement que dans la cellule végétale; cela tient à l'enveloppe cellulaire de cette dernière, qui est plus rigide et moins pénétrable aux dissolutions colorantes.

A. Fischer, de Beauchamp, Michaelis, Fauré-Fremiet, Laguesse et Debeyre, Coudry, Renaut, Levi et Lewiss (M.-R. et W.-H.) préconisent, dans

---

A. Fischer. — Untersuchungen über vitale Farbung. *Anat. Hefte Bd. 16 S Lis.* 1901.

P. de Beauchamp. — *L'Année biologique*, 1908.

I. Arnold. — Supravitale Farbung Mitochondrien ahnichen Granula in den Knorpelzellen nebst Bemerkungen über die Morphologie des Knorpel glycogens. *Anat. Anz. Bd 32. S. 361.* 1900.

Michaelis. — Die vitale Farbung eine Darstellungmethode der Zellgranula. *Arch. für mikr. Anat. Bd 56. S. 558.* 1900.

Faure-Fremiet. — Sur les réactions chimiques des mitochondries. *C. R. Soc. Biol. de Paris.* 1909.

Laguesse. — Méthode de coloration vitale des chondriosomes par le vert janus. *C. R. Soc. de Biol. de Paris.* 1912.

Laguesse et Debeyre. — Sur les formes des chondriomes

leurs études sur la coloration vitale de la cellule animale, le rouge neutre, le bleu de méthylène, le vert janus, le violet de méthyle 5. B., le bleu de Nil et le bleu de crésyl.

Le problème de la coloration vitale de la cellule végétale est encore loin d'être résolu. P.-A. Dangeard a publié récemment quelques recherches, en indiquant les colorants spécifiques pour chaque élément de la cellule.

Dans l'historique de la technique des colorants vitaux de la cellule végétale, on trouve Pfeffer qui, pour la première fois, a réussi en 1886, en utilisant les colorants à base d'aniline et tout particulièrement le bleu de méthylène, à colorer les différents éléments cellulaires. Lauterborn (3),

---

dans quelques glandes salivaires par le vert janus. *C. R. Soc. de Biol. de Paris.* 1912.

E. Coudry. — The vital staining of mitochondria with yanus green and diethylsafranin, in human blood cells. *Internat. Monatschz für anat. physiol. Bd. 31,* p. 267. 1914.

Y. Renaut. — Mitochondries des cellules globuleuses du cartillage hyalin des mammifères. *C. R. des Sc. de l'Acad. des Sc. de Paris.* 1912.

G. Levi. — La constituzione del protoplasma studiata su cellule vivanti coltivate « in vito ». Dall Inst. Anat. di Palermo. *Archivio di Fisiologia.* 1916.

M.-R. et W.-H. Lewiss. — Mitochondria and other cytoplasmic structures in tissue cultures. *The american journal of anatomy.* 1915.

P.-A. Dangeard. — Essais de divers colorants. *Le Botaniste T. 15.* Paris, 1923.

Pfeffer. — Ueber der Aufnahme der Anilinfarben in lebende zelle. *Unters. Bot. Inst. Tübingen Bd. II S. 179.* 1886.

R. Lauterborn. — Untersuchung über Baü Kernteilung und Bewegung der Diatomee. *Leiuzig,* 1 vol., 165 p.

différents éléments celullaires. LAUTERBORN, NICOLLE, donnent des indications sur la coloration vitale.

BEAUVERIE et GUILLERMOND ont donné des résultats obtenus sur la coloration vitale des grains d'aleurone.

GUILLERMOND, dans son étude sur la cellule épidermique des pétales de Tulipe et des feuilles et bractées d'*Iris germanica*, a tenté d'employer les colorants vitaux préconisés par les diverses recherches faites sur la cellule animale, et il recommande comme colorants appropriés : le rouge neutre, le vert janus et le violet de dahlia; cependant, GUILLERMOND s'est servi, dans une large mesure, du milieu isotonique sans aucune coloration.

P.-A. DANGEARD qui, à plusieurs reprises, a fait des travaux et des remarques sur la facilité que présente l'emploi des colorants vitaux dans les études cytologiques, a repris la question et, dans le *Botaniste* (1923) il fait une étude très documentée sur l'emploi des colorants vitaux et sur la clarté des résultats qu'on peut obtenir en se servant de cette méthode d'investigation en cytologie.

C'est grâce à cette méthode de coloration que P.-A. DANGEARD a découvert l'évolution de l'appareil vacuolaire dans les cellules. Il préconise, pour la coloration vitale des chromosomes du noyau (en

---

NICOLLE. — Les colorations vitales des microbes. *Bull. Inst. Pasteur*, p. 137. Paris, 1903.

GUILLERMOND. — Le chondriome des végétaux. *Rev. Gén. de Bot.* Paris, 1919.

activité), le rouge neutre, et pour la coloration du noyau au repos, le violet de dahlia et le violet de méthyle. Pour la coloration de la vacuole, suivant l'état du métabolisme vacuolaire, il préconise le rouge neutre, le bleu de crésyl, le bleu de méthylène, le bleu de Nil, et le bleu de toluidine, et pour la coloration vitale des microsomes, il préconise le violet de dahlia, le vert janus et le violet de méthyle en solutions faibles.

Dans notre travail, nous nous sommes servi des colorants vitaux pour la mise en évidence des différents éléments cellulaires et de leur participation à la vie de la cellule. Nous avons été frappé par le fait que, tant que la cellule reste vivantes, la coloration est imperceptible. De plus, pour les éléments considérés parmi les plus actifs et les plus vivants (comme c'est le cas pour le noyau et les mitochrondries), la coloration apparaît après de réels symptômes de plasmolyse, dont la cellule a été le siège. Car, dans l'emploi de la coloration vitale, le colorant, avant d'avoir réagi sur les divers éléments cellulaires, doit tout d'abord pénétrer à travers les parois de la cellule, et c'est ici que réside le fait que la coloration vitale de la cellule végétale est plus difficile à réaliser que dans la cellule animale. Ce temps de pénétration plus ou moins long (souvent vingt-quatre heures) est suffisant, pour déterminer une plasmolyse susceptible de bouleverser complètement l'organisation de la vie cellulaire. Car c'est après des signes d'altération manifeste de la cellule que la coloration vitale a lieu.

Sur le vivant, nous avons obtenu des résultats satisfaisants par l'emploi du rouge neutre, du vert janus et du violet de dahlia. Nous avons aussi utilisé comme milieu isotonique des solutions de saccharose à concentration variant entre 7,2 et 8,4 p. 100 sans aucune coloration.

⁂

Fixation et Coloration. — La fixation a pour but d'immobiliser le contenu cellulaire par une coagulation rapide, sans laisser le temps aux organites cellulaires de subir les effets plasmolysants du milieu fixateur. Au même titre, ils permettent à la cellule de se prêter aux opérations ultérieures de la coloration par toute la série des teintures utilisées dans les recherches cytologiques. Dans cet ordre d'idées les fixateurs usités en cytologie peuvent être groupés en deux catégories, suivant les recherches qu'on envisage; leur étude suivie de leur influence et des changements qu'ils déterminent, a été l'objet de nombreuses recherches, parmi lesquelles nous pouvons citer celles de Guillermond, qui en outre les a séparés en deux catégories : 1° Les fixateurs nucléaires qui, tout en fixant le noyau, bouleversent le cytoplasme; 2° les fixateurs usités dans les recherches mitochondriales, qui ont la propriété de conserver au cytoplasme l'aspect et la structure qu'il possédait sur le vivant.

Dans nos recherches, étant donné la diversité des aspects du problème, nous les avons employés à tour de rôle; car on sait que chaque fixateur possède un

pouvoir bien défini suivant les organites cellulaires qu'on étudie; en outre ces fixations nous ont permis de faire un contrôle mutuel des résultats.

Dans nos recherches, nous avons employé pour la fixation du noyau, soit l'alcool, soit le liquide de Bouin modifié par Duboscq et Brasil (Picroformol alcoolique) :

0 gr. 50 d'acide picrique dans 75 cm³ d'alcool à 80°	75 cm³
Formol de commerce à 40 %, neutre	30 cm³
Acide acétique cristallisable	7 cm³

C'est un liquide très pénétrant et qui fixe très bien le noyau.

Fixateurs mitochondriaux. — En premier lieu, nous avons employé le formol de commerce à 40 %, neutre, en le faisant agir de 18 à 24 heures; les résultats obtenus ont été, suivant l'objet, d'une régularité assez satisfaisante. Le mélange IV de Regaud a été le seul employé parmi les mélanges préconisés par cet auteur.

Solution aqueuse de bichromate de K. à 3 %	4 parties
Formol de commerce à 40 %, neutre	1 partie

Fixation pendant au moins 4 jours (Spirogyres. *Vitis vinifera*, *Elodea Canadensis*), avec renouvellement du mélange en cas de dépôt ou de troubles. Séjour de l'objet fixé dans une solution de bichromate

de K. à 3 % dans l'eau pendant 8 jours. Cette opération, dénommée postchromisation, a pour but d'insolubiliser les lipoïdes dont serait constituée la substance mitochondriale. D'après GUILLERMOND, le rôle de la postchromisation a été exagéré par REGAUD; elle agit néanmoins comme mordant en préparant le chondriome à une mise en évidence plus claire par les colorations ultérieures. Après la postchromisation, on a opéré un lavage à l'eau courante pendant 24 heures, puis on a passé à la déshydratation par l'alcool à 12°5, 25°, 37°5, 50°, 70°, 90°, trois fois changé à 95° et deux fois à 100°. Coloration à l'hématoxyline ferrique, qui par sa facilité, par sa précision, a donné des résultats excellents. Elle colore le chondriome en marron plus ou moins noirâtre, tandis que le cytoplasme reste incolore ; pour le mettre en évidence, nous avons traité les coupes après la coloration à l'hématoxyline et la différenciation dans l'alun de fer ammoniacal à 2,3 et 4 %, par une solution de l'éosine à 0 gr. 5 dans 100 cm^3 d'eau distillée. La durée du contact doit être théoriquement de l'ordre de quelques secondes, mais nous avons constaté que pour les coupes fines (1 μ.) on obtient une belle coloration après un séjour des coupes dans l'éosine de l'ordre de 5 à 10 minutes. Le cytoplasme est coloré en rose, tandis que la vacuole, par son incolorabilité se détache très nettement. La technique proprement dite de la coloration à l'hémotoxyline que nous avons employée a été la suivante : Après l'élimination de la paraffine des coupes collées à la gélatine, on a plongé les lames pendant 2 heures dans

un mélange à volumes égaux de formol commercial à 40 % neutre et de l'alcool à 95° (insolubilisation de la gélatine), lavage à l'eau, puis on a plongé les coupes pendant 24 heures dans une solution à 4 % d'alun de fer ammoniacal (mordançage), on a lavé rapidement et on a immergé les lames pendant au moins 24 heures dans le mélange préconisé par Regaud :

Eau distillée	80 cm³
Glycérine	10 cm³
Hématoxyline à 10 % dans l'alcool à 95°..	10 cm³

La dissolution de l'hématoxyline dans l'alcool est préparée d'avance. Les coupes apparaissent teintes en noir foncé d'une façon homogène. Pour faire apparaître les détails, on a opéré la différenciation dans un bain à 4 % d'alun de fer ammoniacal, puis dans des bains successifs à 3 et 2 %. On a arrêté la différenciation par un lavage à grande eau, coloration à l'éosine, déshydratation par les alcools à 95° et 100°. Toluène. Montage au baume.

Voici une autre méthode que nous avons employée malgré ses inconstances; c'est celle de Benda, qui nous a donné des résultats excellents surtout pour les Spirogyres. On a fixé l'objet dans le mélange Flemming faible, sans acide acétique.

Solution d'acide osmique à 2 %.....	15 parties
Solution d'acide chromique à 1 %.....	4 parties

pendant 8 jours, on a lavé à l'eau pendant 1 heure

et on a porté les préparations dans un mélange à volumes égaux :

Acide pyroligneux rectifié;
Solution d'acide chromique à 1 %, pendant 24 heures;

on a rincé à l'eau, et on a immergé les pièces dans un dernier bain de bichromate de K. à 3 % de 24 heures à 3 semaines, suivant l'objet; ensuite on a lavé à l'eau pendant 24 heures et on a fini l'opération par une déshydratation ménagée à partir de l'alcool à 12°5 jusqu'à 100°. Coloration, par la méthode de Heidenhain ou par celle de Benda qui autrefois était considérée comme une coloration spécifique mitochondrial. Nous l'avons employée avec les modifications qu'elle a subies. Après l'élimination de la paraffine (collage des coupes à l'albumine glycérinée) les coupes ont été portées dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 5 % et mordançées pendant 24 heures. Elles ont été lavées à l'eau et immergées dans une solution de sulfalizarinate de soude, préparée comme il suit : dans de l'eau distillée, on a versé quelques gouttes de sulfalizarinate (solution aqueuse concentrée) jusqu'à coloration jaune d'ambre. Pour que la coloration réussisse, il faut que les coupes séjournent 24 heures dans la solution. Les coupes ont été séchées sans les laver, entre des feuilles de papier buvard; puis on a versé sur la lame qui les porte une solution de violet de cristal de Benda à 3 % dans l'alcool, diluée d'un volume égal d'eau anilinée saturée. On a chauffé pendant 5 minutes jusqu'à

production de vapeurs. L'excès de colorant enlevé, les coupes ont été immergées pendant 2 minutes dans une solution d'acide acétique à 30 %, lavées à grande eau pendant 10 minutes, déshydratées rapidement par l'alcool à 100° et montées au baume après passage par le toluène. Le noyau prend une coloration brune plus ou moins rougeâtre, tandis que les chondriosomes et les plastes ressortent en relief par leur coloration bleu violet, violet vif. C'est une méthode difficile à réaliser pour obtenir de bons résultats.

Une autre méthode employée est celle de Champy, préconisée par Maximow pour l'étude de la cellule animale et utilisée par Guillermond dans ses magistrales recherches; nous l'avons appliquée à l'étude de la cellule épidermique de la feuille de *Vitis vinifera* et de la cellule d'*Elodea Canadensis*. C'est une méthode rapide et facile malgré sa complexité apparente.

Fixation de 24 à 48 heures dans le mélange de Champy :

Acide chronique à 1 %	7 parties
Bichromate de K. à 3 %	7 parties
Acide osmique dans H^2O à 2 %	2 parties

Lavage à l'eau 1 heure, traitement pendant 24 heures dans le mélange :

Acide pyroligneux rectifié	1 partie
Acide chromique à 1 %	2 parties

Lavage à l'eau distillée pendant 30 minutes. Chromer pendant 3 jours dans bichromate de K.

à 3 %. Lavage à l'eau pendant 24 heures. Déshydratation ménagée à partir de l'alcool à 12°5 jusqu'à l'alcool absolu. Coloration selon KULL. Après élimination de la paraffine, on verse sur la lame qui porte les coupes quelques gouttes de la solution de fuchsine acide, 20 gr. dans 100 cm^3 d'eau anilinée saturée.

Cette eau anilinée doit être aussi vieille que possible, plus elle est vieille, meilleurs sont les résultats. On chauffe jusqu'à production de vapeurs, on prolonge encore la coloration pendant cinq minutes, puis après le refroidissement on rince les coupes à l'eau courante. On immerge les coupes pendant quelques minutes dans une solution aqueuse de bleu de toluidine à 0,5 %. On lave à l'eau et on suit les opérations par une différenciation dans une solution alcoolique d'aurantia préalablement préparée en dissolvant 0 gr. 5 d'aurantia dans 100 cm^3 d'alcool à 70°. Deshydrater par alcool à 95° et 100°; montage au baume. C'est un procédé très rapide, mais moins précis que l'hématoxyline ferrique; on colore en bleu pâle les grains d'amidon, par le bleu de toluidine, tandis que les chromosomes et les plastes sont colorés en rouge plus ou moins vif par la fuchsine. Nous avons fait également un changement dans l'ordre de la coloration; ce qui nous a permis d'obtenir encore de meilleurs résultats. On a coloré à chaud par la fuchsine acide jusqu'à production de vapeurs; on a coloré autant à froid, puis après le lavage à l'eau distillée, on a différencié dans l'aurantia; on a lavé de nouveau à l'eau distillée, et on a coloré par le bleu de Toluidine. Après, on a suivi l'opération par

un rapide lavage à l'eau; on a deshydraté rapidement par l'alcool à 100° et on a monté au baume. On obtient des préparations dans lesquelles les différents organites colorables par cette méthode possèdent une plus grande netteté.

Une autre coloration employée durant notre travail après la fixation par le liquide de Champy est la suivante : Coloration à chaud jusqu'à production de vapeurs par la fuchsine acide anilinée. Lavage à l'eau. Différenciation dans deux solutions successives d'acide picrique préparées de la manière suivante : On fait une solution mère d'acide picrique à saturation dans l'alcool absolu; de cette solution, on prend une partie qu'on mélange avec quatre parties d'alcool à 20 %. Après une première différenciation dans cette solution, on poursuit l'opération par une seconde différenciation modérée qu'on opère dans une solution préparée ainsi : On mélange une partie de la solution mère avec sept parties d'alcool à 20 %; on deshydrate rapidement dans l'alcool à 100° et on monte au baume. On obtient une coloration rouge vif du chondriome et des plastes par la fuchsine, tandis que le cytoplasme et les nucléoles sont colorés en jaune. C'est une coloration qui nous a fourni de belles préparations, surtout pour l'*Elodea canadensis*.

Après la fixation selon Benda, et avant la coloration, nous avons pratiqué le « blanchiment » qui consiste dans une oxydation des coupes déjà étalées sur la lame pendant quelques secondes; on passe les coupes d'abord dans une solution aqueuse à 1 % de permanganate de K; puis dans une solution de 4 %

d'acide oxalique. Cette opération présente l'avantage de rendre ces fixations plus aptes à la coloration, c' il est démontré que l'acide osmique, tout en étant un excellent fixateur, diminue la colorabilité des organites cellulaires.

Pour la mise en évidence des corpuscules métachromatiques des vacuoles des Spirogyres, nous nous sommes servi d'une fixation par l'alcool à 95° suivie d'une coloration par le bleu polychrome d'Unna en solution très étendue d'une durée variant de 15 à 45 minutes. Une fois cette opération terminée, on a différencié à la « glycérine-hermischung ».

Pour les observations post-vitales, surtout pour les cellules plasmolysées d'*Allium cepa*, et lorsqu'on n'a pas pu trouver un milieu isotonique pour l'étude vitale des cellules d'*Elodea canadensis* et des cellules de *Vitis vinifera*, nous avons fait appel à certains réactifs chimiques, tels que le réactif iodo-ioduré à 2 %; ou le même réactif mélangé en proportions égales avec l'acide chromique à 2 %. Nous nous sommes servi également en pareilles occasions d'acide osmique à 1 % dans l'eau. Avec le premier réactif, de même qu'avec le mélange, qui nous a rendu de grands services pour l'étude de la plasmolyse de la cellule d'*Allium cepa*, on a obtenu une belle coloration de chondriome qui prend une teine jaunâtre. Lorsque l'on opère avec l'acide osmique, le chondriome reste incolore, malgré que le contenu cellulaire soit bien fixé.

SOLUTIONS PLASMOLYSANTES

DURÉE DE CONTACT ENTRE L'OBJET

A ETUDIER ET LE MILIEU

I. Fixations et Colorations

Spirogyra { *orbicularis* / *flavescens* / *mirabilis* / *communis*

a) Fixation dans le liquide de Benda.

b) Fixation dans le liquide de Champy.

c) Fixation dans le liquide de D. Regaud.

d) Fixation dans le liquide de Bouin.

e) Fixation dans l'alcool à 95° et dans l'alcool absolu.

f) Fixation dans le formol à diverses concentrations, suivie d'une chromisation plus ou moins prolongée.

g) Fixation à l'acide osmique à 1 %.

Nitrate de cuivre

1° Durée de la plasmolyse 30 minutes. Solutions plasmolysantes à concentrations : 5 p. 100, 3 p. 100 et 1 p. 100.

Fixation Regaud IV.

Coloration selon Regaud à l'hématoxyline ferrique.

Une fixation Regaud IV des Spirogyres non plasmolysées.

2° Durée de la plasmolyse 60 minutes. Solutions plasmolysantes à concentration : 1 p. 1000, 1 p. 5.000, 1 p. 10.000 et 1 p. 100.000.

Fixation Champy.

Coloration selon Kull à la fuchsine acide.

Une fixation Champy des Spirogyres non plasmolysées.

3° Durée de la plasmolyse 120 minutes. Solutions plasmolysantes à concentration : 1 pour 500.000, 1 p. 1.000.000 et 1 p. 10.000.000.

Fixation Benda.

Coloration selon Benda.

Une fixation Benda des Spirogyres non plasmolysées.

Une fixation des Spirogyres non plasmolysées à l'acide osmique à 1 %.

Une fixation des Spirogyres non plasmolysées au formol neutre à 30 %.

Une fixation des Spirogyres non plasmolysées à l'alcool à 95°.

Une fixation des Spirogyres non plasmolysées à l'alcool à 100°.

Acétate de cuivre

1° Durée de la plasmolyse 120 minutes. Solutions plasmolysantes à concentrations : 5 p. 100, 3 p. 100, 1 p. 100 et 1 p. 1.000.

Fixation Champy.

Coloration selon Kull à la fuchsine acide.

Une fixation Champy des Spirogyres non plasmolysées.

2° Durée de la plasmolyse 360 minutes. Solutions plasmolysantes à concentrations : 1 pour 5.000, 1 p. 50.000 et 1 p. 100.000.

Fixation Regaud IV.

Coloration selon Regaud à l'hématoxyline ferrique.

Une fixation Regaud des Spirogyres non plasmolysées.

3° Durée de la plasmolyse 600 minutes. Solutions plasmolysantes à concentrations : 1 pour 500.000, 1 p. 1.000.000 et 1 p. 10.000.000.

Fixation Benda.

Coloration selon Benda.

Une fixation des Spirogyres non plasmolysées dans le liquide de Bouin.

Une fixation des Spirogyres non plasmoylsées dans le formol neutre à 40 %.

Sulfate de cuivre

1° Durée de la plasmolyse 30 minutes. Solutions plasmolysantes à concentrations : 5 p. 100, 3 p. 100, 1 p. 100 et 1 p. 1.000.

Fixation Benda.

Coloration selon Benda.

Une fixation des Spirogyres non plasmolysées Benda.

2° Durée de la plasmolyse 120 minutes. Solutions plasmolysantes à concentrations : 1 pour 10.000, 1 p. 100.000 et 1 p. 500.000.

Fixation Champy.

Coloration selon Kull, à la fuchsine acide.

Une fixation des Spirogyres non plasmolysées dans le liquide de Champy.

3° Durée de la plasmolyse 24 heures. Solutions plasmolysantes à concentrations : 1 pour 1.000.000 et 1 p. 10.000.000.

Fixation Regaud IV.

Coloration selon Regaud à l'hématoxyline ferrique.

Formiate de cuivre

Durée de plasmolyse : 30, 45, 60 et 120 minutes. Mêmes concentrations.

Fixation et coloration selon Benda.

Les mêmes expériences ont été poursuivies avec l'oxalate et carbonate de cuivre, mais la durée de la plasmolyse a été poussée parfois jusqu'à 48 heures.

***

II. **Vitis vinifera** L. (*Ampélidées*)

Recherches sur la plasmolyse de la cellule épidermique.

a) Fixation dans le liquide de Regaud, coloration selon Regaud à l'hématoxyline ferrique.

b) Fixation selon Champy, coloration selon Kull à la fuchsine acide, ou coloration par la méthode d'Altmann modifiée.

c) Fixation dans le liquide Flemming sans acide acétique, coloration selon Benda.

d) Fixation dans le liquide de Bouin-Duboscq-Brasil, coloration selon Heidenhain à l'hématoxyline ferrique.

e) Fixation dans une solution d'acide osmique à 1 %.

f) Fixation dans diverses concentrations de formol suivie d'une chromisation plus ou moins prolongée.

g) Fixation dans l'acide acétique.

h) Fixation en alcool absolu.

Sulfate de cuivre

Durée de la plasmolyse variant entre 3 et 48 heures.

Concentrations des solutions plasmolysantes comprises entre 5 p. 100 et 1 p. 10.000.000.

Fixations : Regaud IV, Champy, Flemming faible et Bouin-Duboscq-Brasil.

Coloration selon Regaud modifiée, Benda, Kull et Altmann modifiée.

Nitrate de cuivre

Durée de la plasmolyse variant entre 1 et 12 heures.

Concentrations des solutions plasmolysantes 5 p. 100 et 1 p. 100.000.

Fixation Regaud IV et Champy.

Coloration selon Regaud modifiée, Kull et Altmann modifiée.

Acétate de cuivre

Durée de la plasmolyse variant entre 15 minutes et 6 heures.

Concentrations des solutions plasmolysantes comprises entre 5 p. 100 et 1 p. 10.000, et de 1 p. 500.000 à 1 p. 10.000.000.

Fixation par la méthode IV de Regaud et dans le liquide de Champy.

Coloration selon Regaud modifiée, Kull et Altmann modifiée.

Carbonate de cuivre

Durée de la plasmolyse comprise entre 1 et 12 heures.

Concentrations des solutions plasmolysantes comprises entre 5 p. 100 et 1 p. 1.000, et de 1 p. 500.000 à 1 p. 10.000.000.

Fixation par la méthode IV de Regaud et dans le liquide de Champy.

Coloration selon Regaud modifiée, Kull et Altmann modifiée.

Formiate de cuivre

Durée de la plasmolyse comprise entre 1 et 24 heures.

Concentrations des solutions plasmolysantes de l'ordre de 5 p. 100 à 1 p. 1.000.000.

Fixation par la méthode IV de Regaud et dans le liquide de Champy.

Coloration selon Regaud modifiée, Kull et Altmann modifiée.

⁂

III. Eledoa Canadensis Rich (*Hydrocharitacées*)

Recherches concernant les cellules épidermiques de la feuille.

L'étude de la cellule non plasmolysée a été faite par les fixations et les colorations suivantes :

a) Une fixation dans le mélange IV de Regaud, coloration selon Regaud modifiée.

b) Une fixation selon Champy, coloration selon Kull à la fuchsine acide; on a opéré de même, des colorations par la méthode d'Altmann modifiée.

c) Une fixation dans le liquide de Flemming faible, coloration selon Benda.

d) Une fixation dans le liquide de Bouin-Duboscq-Brasil, coloration selon Heidenhain, à l'hématoxyline ferrique.

e) Une fixation dans une solution d'acide osmique à 1 %.

f) Une fixation à l'acide acétique à 2 et 4 %.

g) Une fixation dans l'alcool absolu.

h) Une fixation dans le formol à 30 et 40 %, suivie d'une chromisation plus ou moins prolongée.

i) Pour l'étude post-vitale, nous nous sommes servis, soit d'une solution d'iodure de K. à 2 %, soit d'un mélange à parties égales d'iodure de K. à 2 % et d'acide chronique à 2 %.

j) Le milieu isotonique a été créé par des solutions de saccharose comprises entre 7,4 et 8,4. Les sels de cuivre que nous avons employés pour créer les milieux plasmolysants ont été les suivants : sulfate, nitrate, carbonate, chlorures cuivreux et cuivrique, formiate, acétate et oxalate.

Les milieux plasmolysants ont varié entre les mêmes limites, c'est-à-dire de 5 p. 100 à 1 p. 10.000.000; cependant on a insisté dans notre étude surtout pour les solutions limites comprises entre les solutions 5 p. 100 à 1 p. 1.000 et 1 p. 500.000 à 1 p. 10.000.000 parce que ces milieux nous ont donné les résultats les plus intéressants.

Le contact entre notre objet d'étude et le mili. plasmolysant a varié entre 1 et 48 heures. Les fixations et les colorations ont été les mêmes que pour le *Vitis vinifera*; cependant nous avons employé également la fixation par le liquide de Flemming sans acide acétique, avec colorations de Benda.

⁂

IV. **Allium cepa** L. (*Lilliacée*)

Recherches sur la plasmolyse de la cellule de l'épiderme interne des tuniques du bulbe sans fixations. Toutes nos recherches ont eu pour but

d'élucider le problème de la plasmolyse par de méthodes d'investigation et de coloration vitale que nous allons exposer durant nos recherches. Nous en profiterons pour faire des remarques succinctes sur le rôle important que joue dans la cytologie la technique de la coloration vitale préconisée par P.-A. Dangeard. En outre, cet excellent matériel nous a permis d'étudier le rôle considérable que joue, durant ces recherches, la création d'un milieu isotonique. Nous l'avons employé en premier lieu pour l'étude de la cellule sur le vivant, sans aucune coloration vitale, et en second lieu pour étudier, durant le phénomène de la plasmolyse, le retour en arrière de la cellule plasmolysée, grâce justement à ce changement dû au milieu isotonique.

Nous ne nous sommes pas servi de fixation et d'inclusion à la paraffine pour ce matériel, car nous avons vu que les contenus cellulaires obtenus étaient fortement contractés, cela est dû, il nous semble, à la fragilité du matériel.

FIXATION

DU CHONDRIOME ET DU CYTOPLASME

Les études sur la cellule vivante sont difficiles ; elles ne permettent pas de tirer des conclusions bien précises. Les éléments cellulaires, en effet, possèdent tous à peu près le même indice de réfraction, fait gênant pour l'observation. Bien mieux même, lorsqu'on observe des organites mis en relief par leur réfringence plus accusée, cela est dû au fait que ces organites sont en voie d'altération. On est donc obligé de compléter l'étude vitale par des observations faites « *post-mortem* » grâce aux fixateurs qui, d'une part, conservent la cellule dans l'état présenté par le vivant, grâce à la coagulation ou à la précipitation des albuminoïdes composant la presque totalité des formations cellulaires; d'autre part durcissent et insolubilisent le contenu cellulaire, mordancent les organites et les rendent plus aptes aux opérations de la coloration.

D'autre part, en nous appuyant sur le fait que chaque organite cellulaire possède ses réactions

chimiques spécifiques vis à vis des fixateurs usités en cytologie, il résulte de ce fait une différenciation optique qui amène une visibilité plus accusée de ces organites et par conséquent une mise en évidence plus nette.

L'influence des fixateurs sur la cellule a été l'objet d'un grand nombre de recherches, d'ailleurs très contradictoires. Déjà dans les travaux anciens qui traitent de ce problème, des auteurs comme : Schwartz, Flemming, Kolliker, A. Fischer, Henneguy conseillent la plus grande prudence lorsque l'on entreprend d'interpréter des figures cytoplasmiques obtenues après fixation. Chaque albuminoïde cellulaire, en effet, aurait sa figure de précipitation. de même que chaque fixateur produirait sa figure de fixation. (Fischer).

On observe en effet que cette structure ne correspond pas à l'aspect que présente le cytoplasme sur le vivant, et diffère avec chaque fixateur. La théorie la plus répandue actuellement admet que ces structures proviennent du fait que chaque fixateur possède son sens différent. ou pour mieux dire, son pouvoir

---

Schwartz. — Die morphologie und Chemie Zusammensch. des Protoplasma. *Beit. zur Biologie der Pflanzen*, 1887.

Flemming. — Morphologie des Zelle. *Ergebniss der Anat. und Entwichlungesch.* 1893, 1894, 1896, 1898.

Kolliker. — Handbuch des Gewebelehre des Menschen. *Leipzig* 1889.

A. Fiecher. — Fixierung, Farbung und Bau des Protoplasma, 1899.

Henneguy. — Leçons sur la cellule. *Paris*, 1896.

spécifique de précipiter les albuminoïdes pendant la fixation.

Pour élucider cette question, et pour mettre au point ce sujet si controversé de l'action des fixateurs sur le cytoplasme, MAYER a essayé, par des analyses chimiques, de trouver le fixateur, qui tout en remplissant son rôle, change le moins possible l'aspect réel du cytoplasme. Malheureusement, toutes ces tentatives en vue de modifier l'empirisme de l'ancienne méthode n'ont pas abouti à des résultats positifs. Toutes les recherches se sont bornées à des analyses chimiques quantitatives et qualitatives plus ou moins rigoureuses.

En employant des liquides fixateurs chromo-osmiques et chromo-formolés, et en les faisant suivre d'une post-chromisation plus ou moins longue dans une solution de bichromate de K., ALTMANN et BENDA ont eu le mérite de résoudre partiellement ce problème. Car en modifiant l'ancienne technique, par une différenciation plus accentuée des organites cellulaires, ils ont abouti à la découverte des mitochondries, inconnues auparavant.

La méthode « mitochondriale » découverte par ALTMANN et BENDA, a été l'objet d'un perfectionnement continu, malgré de nombreuses expériences contradictoires.

A. MAYER. — Das chlorophyll. Korn in chemicher, morphologischer und biologischer Beziehung. *Leipzig,* 1883.

ALTMANN. — Die Elementerorganisem und ihre Beziehung zu der Zelle, 1894.

Regaud a montré dans ses recherches que la post-chromisation, tout en agissant comme mordant (préparation des organites cellulaires à la coloration), a le pouvoir d'insolubiliser les lipoïdes du chondriome. C'est également l'opinion de Polichard. Pour cela, ils ont entrepris le dosage du chrome des organes après la fixation, et ils ont constaté que la post-chromisation augmente nettement le pouvoir qu'ont les organites de retenir le chrome. En s'appuyant sur ce fait, ils ont tiré cette conclusion : le chrome se combine avec les lipoïdes mitonchondriaux et les insolubilise. En outre, ils ont montré l'action nocive de l'acide acétique et de l'alcool sur le chondriome, qui est dissout partiellement; depuis ils ont remarqué que les liquides formolés et chromo-osmiques fixent bien le chondriome. Regaud a fait voir le premier que le formol, suivi d'un traitement au bichromate de K., donne d'excellentes fixations.

Mayer (1) et ses collaborateurs, en particulier

Regaud. — Les mitochondries, organites du protoplasma, considérés comme les agents de la fonction électique et pharmacopeique de la cellule. *Rev. de Medic.*, 1914.

Regaud et Policard. — Sur la signification de la rétention du chrome et technique histologique au point de vue lipoïdes et des mitochondries. *Soc. de Biol.*, 1913.

Mayer et Schœffer. — Sur les réactions chimiques des mitochondries. *Soc. de Biol.* Paris, 1909.

Mayer, Kathery et Schœffer. — Action des fixateurs chromo-osmiques sur les lipoïdes des tissus. *Soc. de Biol.* Paris, 1912.

Mayer et Schœffer. — Une hypothèse de travail sur le rôle physiologique des mitochondries. *Soc. de Biol.* Paris, 1913.

Mayer et Schœffer. — Sur la structure des gels. Application à l'étude de la constitution du protoplasma et des liquides de l'organisme. *Soc. de Biol.* Paris, 1908.

Mavas, Mayer et Schœffer. — Action de quelques fixateurs des cellules nerveuses sur la composition des tissus. *Soc. de Biol.* Paris, 1912.

Schœffer, ont essayé d'expliquer la valeur de la méthode mitochondriale. Ils n'admettent pas dans leurs interprétations, l'opinion de Regaud sur l'action du bichromate de K. Ils expliquent cette action de la manière suivante : En premier lieu, le bichromate de K. possède une inégale action sur les différents organites cellulaires; car une partie du lipoïde est attaquée et hydrolysée, l'autre reste indifférente à son action, mais généralement la présence de ce sel exerce une action oxydante sur les lipoïdes, avec formation d'oxacides; et ce sont justement ces oxacides qui se colorent par la méthode mitochondriale.

De même Duesberg, Cowdry, Sjovall et Bang ont combattu la théorie de la post-chromisation et ils concluent à son inutilité. Ces deux derniers ont montré également que les fixations faites par le formol à des concentrations inférieures à 40 % déterminent sur la cellule des altérations du même ordre de grandeur que le milieu hypotonique (gonflement du chondriome et sa transformation en vésicules). Guillermond n'admet pas en partie les conclusions de Regaud sur la post-chromisation. Il a constaté, en effet, que les coupes fixées par la méthode IV de Regaud et par la méthode de Benda sans post-chromisation lui ont fourni les mêmes résultats qu'avec la post-chromisation. En ce qui concerne le rôle d'insolubilisation de bichromate de K. sur les

---

Bang et Sjovall. — Studien über chondriosomen unter normalen und patologischen Bedingungen. *Beitrage path. Anatomie und zur allgmeinen. Pat.* 1916.

lipoïdes mitochondriaux, GUILLERMOND ne l'admet pas; il incline plutôt vers la conception suivante : le bichromate agit comme mordant sur le chondriome, tout en diminuant la colorabilité du cytoplasme. Néanmoins, cet auteur a observé que les fixations au formol donnent des résultats inférieurs au point de vue colorabilité du chondriome à la fixation de REGAUD (bichromate-formol). En ce qui concerne l'opinion de BANG et SJOVALL sur l'inutilité de la post-chromisation, GUILLERMOND croit qu'elle est fort exagérée.

SAPEHIN, dans son étude sur l'individualité des plastides, a obtenu par le formol commercial de bonnes fixations du chondriome sans se servir de la post-chromisation.

Au cours de leurs recherches, COWDRY, LEWITSKY, RUDOLPH et GUILLERMOND ont repris la question et étudié l'influence de divers fixateurs sur la cellule.

COWDRY, dans son étude sur les cellules du méristème de la radicule du pois, a trouvé que l'acide acé-

---

N.-H. COWDRY. — The vital Stainig of Mitochondris white janus green and Diethylsafranin in Human Blood ceels. *Inter. Monatsch. Anat. u. Phys.* 1914.

LEWITSKY. — Die chloroplastenanlagen in lebenden und fixierten Zellen von Elodea Canadensis. *Ber. der Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXIX.* 1912.

Vergliechenden Untersuchung über die chondriosomen in lebender und fixierten Pflanzenzellen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXIX.* 1912.

RUDOLPH. — Chondriosomen und Chromatophoren. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 1912.

tique, l'alcool absolu, la solution alcoolique de sublimé, la solution alcoolique d'acide picrique, le liquide de Zenker, altèrent profondément le chondriome et que, d'autre part, l'action physico-chimique de la chaleur à 45-50° dissout le chondriome. L'acide osmique en vapeur ou en solution aqueuse à 1 % fixe le chondriome, qui reste incolore. Enfin, le solutions aqueuses de sublimé ou d'acide picrique, la méthode de Champy, et la méthode IV de Regaud, conservent bien le chondriome et la cellule est fixée sans changement. En ce qui concerne la coloration vitale, Cowdry a obtenu une coloration difficile du chondriome par le vert janus.

Rudolph, dans ses recherches sur les cellules du méristème de la tige d'*Asparagus officinalis*, a étudié l'influence des divers fixateurs sur la cellule, et il est arrivé aux conclusions suivantes : les alcalis (Na et K.) produisent un gonflement des chondriosomes qui se dissolvent partiellement; l'éther chloroformé transforme les chondriocontes en fines granulations, tandis que l'alcool absolu fixe le chondriome en le ratatinant (c'est d'ailleurs également l'opinion d'Alvarado, sur les cellules de Méduse) ; les mêmes résultats sont obtenus avec le liquide picro-formolé de Bouin et les solutions alcooliques de sublimé ou d'acide picrique. Rudolph a obtenu en outre, avec le liquide de Flemming fort, une bonne fixation du chondriome. L'acide osmique en vapeur ou en solution aqueuse à 1 % fixent bien le chondriome, mais ce dernier reste incolore. Le réactif iodo-ioduré conserve bien le chondriome, qui est en outre coloré en jaune pâle.

Lewitsky, dans son étude sur les cellules de méristème de la tige, et des écailles axiliaires d'*Elodea Canadensis*, a obtenu de bonnes fixations en utilisant le liquide de Flemming faible; le formol à diverses concentrations, les méthodes d'Altmann, de Champy, et la méthode IV de Regaud. Avec l'acide acétique, le liquide de Carnoy, le liquide de Lenhossek, le liquide picroformolé de Bouin, le Flemming fort, les solutions alcooliques et aqueuses de sublimé ou d'acide picrique, il a obtenu des fixations dans lesquelles le chondriome a subi des altérations profondes.

Guillermond, qui à plusieurs reprises a entrepris des recherches en vue d'élucider ce problème, expose dans la *Rev. Géné. de Botanique*, 1919, les conclusions auxquelles il est arrivé. Ses observations ont porté sur les cellules épidermiques des pétales de *Tulipa suaveolens*, et sur les cellules épidermiques d'*Iris Germanica*. D'après les changements que les fixateurs et les réactifs usités en cytologie déterminent sur les différents organites de la cellule, Guillermond arrive à la conclusion qu'on peut séparer par leurs manifestations, ces fixateurs en trois catégories.

Les fixateurs de la première catégorie, tout en bouleversant complètement le cytoplasme et en

---

Guillermond. — Le chondriome des végétaux. *Rev. Gén. de Bot. T. XXXI.* Paris, 1919.

Guillermond. — Le chondriome des végétaux. *Rev. Gén. de Bot. T. XXXI.* Paris, 1919.

détruisant le chondriome, fixent pourtant bien le noyau. Ce sont : l'alcool à 95° et l'alcool absolu, l'alcool iodé, les solutions alcooliques, saturées d'acide picrique et de sublimé, le liquide picro-formolé de Bouin, les liquides de Perenyi, de Ladowsky, de Zenker, de Tellyeniszky, de Mann et de Carnoy.

Les fixateurs du second groupe déterminent sur le cytoplasme la formation de plages de coagulation, le chondriome est ratatiné et en outre il perd de sa chromaticité; ce sont les solutions aqueuses concentrées d'acide picrique et de bichlorure de Hg; et le liquide de Flemming fort (mélange chromo-acéto-osmique).

Dans le troisième groupe, rentrent les fixateurs mitochondriaux, caractérisés par ce fait qu'ils fixent très bien le chondriome, mais ils déterminent parfois une certaine alvéolisation du cytoplasme, en outre, ils fixent bien le noyau dont la structure n'est nullement altérée. Ce sont la méthode d'Altmann, de Benda, de Champy, et la méthode IV de Regaud. Les trois premiers fixateurs renferment le mélange Flemming faible plus ou moins modifié. La méthode IV de Regaud (mélange bichromate-formol) est généralement la meilleure pour les recherches sur le cytoplasme végétal. Cependant cette méthode, malgré son caractère, ne met pas en évidence les inclusions graisseuses qu'on trouve fréquemment incluses au sein des chondriocontes, et qui brunissent sous l'action de l'acide osmique. Elle ne conserve pas non plus les microsomes, organites de nature grais-

seuse, constants dans la cellule végétale comme l'ont montré P.-A. Dangeard et Guillermond noircissant sous l'action de l'acide osmique renfermé par les fixateurs d'Altmann, Benda et Champy.

Guillermond a obtenu une bonne conservation du chondriome avec le réactif iodo-ioduré et avec l'acide osmique en vapeurs ou en solution à 1 % dans l'eau (dans ce dernier cas, le chondriome reste incolore). Cet auteur conseille l'emploi de ces deux réactifs pour les observations « *post-mortem* », dans le cas où l'on ne peut pas trouver un bon milieu isotonique.

Le milieu hypotonique gonfle et transforme le chondriome en vésicules, tandis que le milieu hypertonique détermine une légère contraction des chondriocontes. L'action physico-chimique de la chaleur (45-50°) transforme le chondriome en vésicules. En outre, Guillermond, a obtenu la coloration vitale du chondriome avec une certaine inconstance par le vert janus et le violet de dahlia. L'emploi des colorants tels que, le bleu de Crésyl, le bleu de Méthyle, le bleu de Nil, et le rouge neutre ne lui ont donné aucune coloration.

*
**

Nous avons profité de notre matériel, en particulier des cellules épidermiques d'*Elodea Canadensis* et surtout d'*Allium Cepa*, pour tenter de faire une étude succincte de l'effet des fixateurs et des réactifs que nous avions employés durant nos recherches.

La technique employée pour ces observations est

la suivante : nous avons mis quelques gouttes de fixateur ou de réactif sur une lame porte-objet, sur laquelle nous avons monté la préparation; puis nous avons suivi l'influence du fixateur sur le cytoplasme ou sur le chondriome au microscope. Certaines de nos conclusions cependant sont tirées d'observations faites sur des coupes fixées et colorées.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

DE NOS RÉSULTATS

1° Le réactif iodure de K. à 2 % dans l'eau donne une fixation (voir pl. 1, fig. 1) dans laquelle on observe une certaine instabilité des résultats. Il détermine, en effet, dans certaines cellules d'*Allium cepa*, une anastomose du chondriome qui présente des gonflements sur son trajet; dans certaines préparations même le chondriome est complètement transformé en vésicules. Dans quelques cellules âgées (noyau rejeté contre la paroi cellulaire), il détermine une structure alvéolaire du cytoplasme et même sa coagulation par place. Le noyau apparaît fortement contracté. Ce réactif est un mauvais fixateur.

2° Le réactif iodo-ioduré, conseillé et employé par Rudolph dans ses recherches sur les cellules du méristème de la tige d'*Asparagus officinalis* et utilisé par Guillermond dans son étude sur les cellules épidermiques des pétales de *Tulipa suaveolens* et d'*Iris germanica*, ne nous a donné que de médiocres

résultats avec *Allium Cepa* et *Elodea Canadensis*. Ce fixateur est en effet assez inconstant; certaines cellules sont bien fixées, tandis que d'autres présentent des altérations profondes et caractéristiques qui se manifestent par un gonflement du chondriome, dont les éléments peuvent prendre quelquefois une forme vésiculeuse. En outre, ce réactif détermine la coagulation par place du cytoplasme; celui-ci se colore en jaune foncé et le chondriome en jaune clair, mais la coloration de ce dernier est tellement confuse que nous avons eu beaucoup de difficultés à interpréter certaines figures.

Néanmoins, nous nous sommes servi, en obtenant toujours d'excellents résultats, du mélange à parties égales d'une solution aqueuse d'iodure de K. à 2 % et d'acide chromique à 2 %. Ce réactif a été composé par LENOIR. Nous l'avons employé dans nos recherches sur *Elodea Canadensis* et tout particulièrement sur *Allium Cepa* (voir pl. 1, fig. 2). Malgré le commencement de coagulation par place que présente le cytoplasme, le chondriome est très bien fixé, il se détache nettement par sa coloration plus ou moins brun foncé, sur un cytoplasme très finement granuleux — *Allium Cepa* — coloré en brun pâle, tandis que le noyau prend une belle teinte brun acajou, tranchant nettement à côté de celle des autres organites cellulaires. Dans le cas où la préparation est trop foncée, LENOIR conseille de l'éclaircir en

---

M. LENOIR. .. Une manipulation de travaux pratiques sur le chondriome. *Rev. Gén. de Bot.*, T. 38, p. 720. Paris, 1926.

ajoutant quelques gouttes d'eau glycérinée sur la lame porte-objet. C'est un réactif rapide donnant des résultats très clairs.

3° L'acide osmique en solution à 1 % dans l'eau, est lui aussi un excellent fixateur, il colore le cytoplasme en jaune pâle, avec certaines tendances de la part de ce dernier surtout dans les cellules âgées, à se vacuoliser par place, mais il n'apparaît jamais de zones cytoplasmiques coagulées. Le chondriome est très bien fixé, sans jamais présenter de tendance à l'anastomose (signe de plasmolyse), cependant, dans certaines cellules, le chondriome présente une faible tendance à former des vésicules sur son trajet. Les composés vacuolaires réduisent l'acide osmique, de sorte que la vacuole prend une teinte brune *Allium Cepa* plus ou moins foncée, suivant, il nous semble, la teneur de la vacuole en composés phénoliques, ou bien reste incolore (*Elodea Canadensis*). Les corpuscules de nature graisseuse — *microsomes* de P.-A. Dangeard, qui sont constantes, comme l'ont montré ce dernier et Guillermond — dans la cellule végétale, brunissent sous l'action de l'acide osmique et apparaissent très nettement. Nous avons pu aussi observer durant nos recherches, un certain brunissement des inclusions graisseuses qui se trouvent sur le trajet des chondriomes. Le noyau, ou plutôt, croyons-nous, sa paroi, réduit comme les composés vacuolaires, l'acide osmique, il brunit et paraît saillir de la masse cellulaire.

4° L'alcool à 95° et l'alcool absolu, déterminent tout d'abord un commencement de plasmolyse. Le

cytoplasme quitte parfois les parois cellulaires; paraît très finement granuleux avec production de vacuoles plus ou moins nombreuses, localisées souvent dans la région périnucléaire. Le chondriome jaune très pâle au début, se décolore progressivement, de sorte qu'il perd de sa chromicité et il se dissout peu à peu, pour disparaître presque complètement dans certaines cellules. Ceci est dû, semble-t-il, plutôt à la perte complète de sa chromicité qu'à une dissolution du chondriome dans la masse cytoplasmique. Le noyau, qui présente une faible contraction, semble néanmoins être bien fixé.

5° L'acide acétique, aux concentrations de 2 et 4 %, fixe très mal le cytoplasme, tout en désorganisant le chondriome. Le cytoplasme présente une tendance nette à se vacuoliser, et il apparaît de grandes étendues complètement coagulées dans sa masse (solutions à 4 % agissant sur *Allium Cepa* et *Elodea Canadensis*). Le chondiome, avec les solutions à 2 %, perd complètement sa chromicité, pour se transformer peu à peu en boules vésiculeuses qui éclatent parfois et se transforment en de très fines granulations. Tandis que les solutions à 4 % le dissolvent complètement. Le noyau est bien fixé.

6° Le formol neutre à 40 %, sans post-chromisation, nous a fourni d'assez bons résultats; mais le chondriome apparaît plus nettement dans les préparations suivies d'une post-chromisation, en outre, il ne présente aucun changement, on n'a pas même observé la moindre tendance à l'anastomose. Le cytoplasme est bien fixé, lui aussi, en manifestant pourtant

une certaine tendance à se coaguler par place dans les cellules âgées.

7° Le formol neutre à 30 % et surtout à 20 % (voir pl. 2, fig. 4), avec ou sans post-chromisation, nous a donné des préparations dans lesquelles le chondriome est sensiblement gonflé, dans certaines cellules, il présente une forme vésiculeuse. En règle générale on obtient par ces fixations les mêmes apparences qu'avec les solutions faibles de sels de cuivre. Enfin le cytoplasme présente un aspect alvéolisé. Le noyau est fortement gonflé.

8° Élévation de la température. — Des préparations examinées dans un solution de sulfate de cuivre à 1 p. 1.000, chauffées à 50° nous ont montré que l'élévation de la température possède une action nocive sur le chondriome qui se dissout partiellement — *Allium Cepa* — après avoir passé par la forme vésiculeuse. Le cytoplasme semble présenter une moindre altération; néanmoins, on observe la formation par place des plaques coagulées. En outre, le cytoplasme périnucléaire présente une forte tendance à se vacuoliser. Le noyau se deshydrate énergiquement, ce qui détermine une diminution de son volume.

*
**

Le mélange Bouin-Duboscq-Brasil fixe bien le noyau, mais le chondriome est profondément altéré (voir pl. 2, fig. 5). Cette altération se traduit par la présence de plaques finement granuleuses

dans la masse cytoplasmique, ou des amas dans lesquels on peut distinguer un enchevêtrement des débris des parois des chondriosomes. Ces plaques sont caractérisées par leur refringence plus accusée que celle de la masse cytoplasmique; elles se colorent d'une façon très diffuse par l'hématoxyline ferrique. Le cytoplasme présente un aspect finement granuleux, et l'on observe la formation de petites vacuoles situées dans le cytoplasme périnucléaire. Le noyau est très bien fixé, malgré sa légère contraction (*Elodea Canadensis*).

Les coupes fixées par la méthode IV de Regaud (voir pl. 4, fig. 12), par les méthodes de Benda et de Champy; puis colorées, les premières par l'hématxyline ferrique, les secondes selon Benda ou à l'hémotaxyline ferrique, et les troisièmes, par la méthode de Kull, à la fuchsine acide ou par la méthode d'Altmann modifiée, nous ont fourni les meilleures préparations. Le cytoplasme présente la même structure et le même aspect que sur le vivant, cependant dans certaines cellules il semble être finement granuleux. Le chondriome conserve son intégrité, sans le moindre ratatinement ou amincissement, après fixation, il ne présente que très rarement une tendance à l'anastomose, ce qui est dû, il nous semble, à un inégal degré de l'action du fixateur sur lui, néanmoins, ce dernier est bien fixé. En outre, les fixations selon Benda et Champy, ont l'avantage sur la méthode IV de Regaud, de mettre en évidence dans les coupes les inclusions graisseuses. Le noyau présente le même aspect que sur le vivant.

⁂

Avant d'aborder l'étude de la plasmolyse, nous avons jugé utile d'observer dans leur état normal les cellules dont nous nous sommes proposé d'étudier la plasmolyse, pour mieux nous rendre compte des changements qu'elles subissent en présence d'un milieu plasmolysant.

Cette étude repose sur des observations vitales et post-vitales, enfin sur l'observation de coupes fixées et colorées par des méthodes mitochondriales.

TABLEAU COMPARATIF DES CARACTÈRES PHYSIOLOGIQUES ET HISTO-CHIMIQUES DES MITOCHONDRIES

D'APRÈS LES DIVERSES RECHERCHES FAITES EN CYTOLOGIE VÉGÉTALE

	COWDRY CELLULES DU MÉRISTÈME de la radicule de pois	LEWITSKY CELLULES DU MÉRISTÈME de la tige et des écailles axillaires d'*Elodea Canadensis*	RUDOLPH CELLULES DU MÉRISTÈME de la tige d'*Asparagus officinalis*	GUILLERMOND CELLULES ÉPIDERMIQUES des pétales de *Tulipa suaveolens* et d'*Iris Germanica*	OBSERVATIONS PERSONNELLES CELLULES ÉPIDERMIQUES d'*Allium cepa* et d'*Elodea Canadensis*
Action des milieux hypotoniques.				Gonflement et transformation en vésicules des chondriocontes et des mitochondries granuleuses.	Le chondriome prend une forme vésiculeuse.
Action des milieux hypertoniques.				Légère contraction des chondriocontes.	Tendance du chondriome à se contracter.
Diverses actions physico-chimiques	Le chondriome semble se dissoudre à une température de 45°-50°.			Gonflement et transformation en vésicules des chondriosomes sous l'influence de compression mécanique du gel de températures élevées et des anesthésiques.	A une température comprise entre 45° et 50°, le chondriome se dissout partiellement.
Action de l'acide acétique.	Altération profonde.	Altération profonde.		Altération profonde avec gonflement et transformation en grosses vésicules des chondriocontes.	Altération profonde du cytoplasme et transformation du chondriome en vésicules ainsi que sa dissolution.
Alcali (soude)			Gonflement, puis dissolution des chondriosomes.		
Colorations vitales	Coloration des chondriosomes seulement par le vert janus, mais plus difficile à obtenir que dans la cellule animale.			Coloration des chondriosomes par le vert janus et violet de dahlia. Pas de coloration par les bleus de Cresyl, et de méthylène, de Nil et de rouge neutre.	Coloration du chondriome par le vert janus.
Réactif iodo-ioduré.			Bonne conservation du chondriome.	Bonne conservation du chondriome.	Généralement, il conserve bien le chondriome.
Acide osmique en solution à 1 % ou en vapeur.	Fixation sans brunissement.		Fixation des chondriomes qui restent incolores.	Fixation des chondriosomes qui restent incolores.	En solution à 1% fixe très bien le chondriome qui reste incolore.
Ether chloroformé			Transformation des chondriocontes en grains.	Transformation des mitochondries en grosses vésicules.	
Liquide de CARNOY.		Altération profonde.		Transformation des chondriocontes en vésicules et confluences.	
Liquide de LENHOSSEK		Altération profonde.		Altération profonde avec confluence et formation des vésicules.	
Liquide picroformolé de BOUIN.		Altération profonde.	Fixation des chondriosomes avec ratatinement.	Altération profonde.	Altération profonde.

Liquide de Flemming. Fort.		Altération profonde.	Bonne fixation.	Fixation avec ratatinement.	
Liquide de Flemming. Faible.		Bonne fixation.		Bonne fixation.	
Formol à diverses concentrations.		Bonne fixation.		Bonne fixation.	Formol à 40°/₀. Bonne fixation : Formol à 20°/₀. Le chondriome est sensiblement gonflé, et même transformé en vésicules.
Solution alcoolique de sublimé.	Altération profonde.	Altération profonde.	Fixation avec ratatinement.	Altération profonde.	
Solution aqueuse de sublimé.	Bonne fixation.	Altération profonde.		Assez bonne fixation.	
Solution alcoolique d'acide picrique.	Altération profonde.	Altération profonde.	Fixation avec ratatinement.	Altération profonde.	
Solution aqueuse d'acide picrique.	Bonne fixation.	Altération profonde.		Assez bonne fixation.	
Liquide de Tellyesniczky.				Transformation des chondriosomes en grosses vésicules.	
Liquide de Zenker.	Altération profonde.			Altération avec transformation des chondriosomes en vésicules	
Méthode de Altmann.		Bonne fixation.		Fixation.	
Méthode de Benda.				Bonne fixation.	Bonne fixation.
Methode de Champy.	Bonne fixation.	Bonne fixation.		Bonne fixation.	Bonne fixation.
Liquide IV de Regaud. Solution aqueuse saturée d'acide picrique 20 vol., formol 5 vol.					
Liquide IV de Regaud, formol 20 vol. bich. de K. 80 vol.	Bonne fixation.	Bonne fixation.		Bonne fixation.	Bonne fixation.
Dégénérescence du chondriome.				Transformation des chondriocontes en grains, puis en vésicules, avec parfois production de globules graisseux signalés dans la cellule animale par Fiessinger et Champy.	

LES SPIROGYRES

Ces Algues filamenteuses appartiennent au groupe des « Conjuguées », elles vivent dans les eaux stagnantes ou ayant un faible courant à la surface. Leurs cellules sont cylindriques, filiformes, placées bout à bout, réunies en filaments, nageant librement dans l'eau.

La cellule est enveloppée d'une membrane, entourée elle-même par une mince couche cuticulaire, à réaction cellulosique (elle prend une coloration jaunâtre avec l'iodure de Zn. iodé), le tout est revêtu d'un produit propre de la cellule, de nature gélatineuse.

Suivant les espèces, les dimensions cellulaires peuvent varier, car il y a une étroite liaison entre le rapport : longueur, largeur cellulaire. On a été frappé dans l'étude des Spirogyres par la faible quantité de cytoplasme que leurs cellules renferment. Il forme une mince couche appliquée contre la face interne des parois cellulaires. L'épaisseur de cette

couche augmente dans certains endroits formant des proéminences, surtout sur la surface de contact entre les cellules. Ces proéminences ont l'aspect de bâtonnets ou de poutres, et apparaissent très nettement surtout avant la bipartition de la cellule. Dans ce cytoplasme pariétal très réfringent et finement granuleux, il nous a été impossible de déceler le moindre courant cytoplasmique. Cependant, on a pu observer dans « *Spirogyra Flavescens* », qu'à côté de ces fines granulations cytoplasmiques, il existe de petits corpuscules plus grands que les granules et qui se déplacent dans la masse cytoplasmique par trépidations qui rappellent le mouvement brownien, sans toutefois avoir sa netteté. On a vu que cette trépidation est marquée par de très courts arrêts, souvent suivis par un changement dans la direction initiale du mouvement. On ne peut affirmer si ces corpuscules sont, ou non, de nature graisseuse. Ils ne réduisent pas l'acide osmique; cependant, on peut affirmer qu'on ne les retrouve plus après la fixation. D'après P. Dangeard, ils semblent être de nature proteïque.

Outre cette couche cytoplasmique pariétale, le noyau est entouré lui-même par une mince couche de cytoplasme, très faible par rapport à la grandeur de la cellule. De cette couche cytoplasmique périnucléaire partent deux sortes de trabécules (voir pl. 3, fig. 7) : les premiers relient le cytoplasme périnucléaire au cytoplasme pariétal; dans certaines phases cellulaires, ces trabécules se dichotomisent en arrivant

près du cytoplasme pariétal. Les seconds relient le cytoplasme périnucléaire à certains corpuscules mal définis, autour desquels se trouvent les grains d'amidon qu'on appelle *pyrenoïdes*. Dans ces trabécules, nous avons pu voir assez nettement un faible mouvement cytoplasmique qui se traduit par de légères oscillations des bords de ces trabécules. Dans le cytoplasme périnucléaire, de même que dans le cytoplasme pariétal, on a pu observer sur le vivant et après fixation (par la méthode de BENDA, ou par la méthode IV de REGAUD — coloration pour la première par la méthode de BENDA, à la fuchsine acide ou selon HEIDENHAIN, et pour la seconde à l'hématoxyline ferrique — coupe mince 1-2 microns) que dans certaines phases du métabolisme cellulaire, on trouve dans la masse cytoplasmique périnucléaire de minuscules organites qui affectent la forme de très petits bâtonnets, ou de petites granulations se colorant par la méthode mitochondriale. De même, dans le cytoplasme pariétal, et tout particulièrement sur les bords du chromatophore. Enfin, dans l'étude sur le vivant, on a pu observer une certaine instabilité de la forme de ces organites; ceux-ci peuvent passer rapidement de la forme granuleuse à la forme bâtonnet et inversement. Par leurs formes, ainsi que par leurs réactions, ils représentent le chondriome de cette cellule. En ce qui concerne les chondriochontes, nous n'avons pas pu en observer. Le chondriome est représenté dans ces cellules comme nous venons de le dire, par des mitochondries granuleuses et par de courts bâtonnets; il a été

observé pour la première fois par ZACHARIAS, et depuis par GUILLERMOND et P. DANGEARD.

Dans le cytoplasme pariétal, se trouve localisé le chromatophore ou endocarpe, fortement imprégné de chlorophylle, sa forme est celle d'un ruban enroulé en spirale; cette forme n'est pas constante, elle change sous l'influence de la lumière. C'est un organe permanent de la cellule, car dans la division bipartielle, il suit la division. D'après les recherches d'EMBERGER et de MANGENOT, on sait que, chez les végétaux chlorophylliens, le chondriome d'après sa fonction peut être considéré comme formé par deux catégories bien définies et distinctes d'éléments. Ces deux catégories d'éléments conservent leur individualité au cours du développement, l'une d'elle est affectée à la photosynthèse et correspond aux plastides. En s'appuyant sur ce fait, GUILLERMOND admet que le chromatophore des Spirogyres ne correspond pas à tout le chondriome, mais à la partie du chondriome affectée à la fonction chlorophyllienne.

Toutes les méthodes de fixations et particulièrement celle de BENDA, montrent que le chromatophore a une structure fibrillaire d'aspect spongieux. Il est formé par des fibres très fines, disposées suivant une certaine symétrie, ayant comme point d'orientation les bords du chromatophore. Ces fibres paraissent être constituées, d'après GUILLERMOND, par deux sortes d'éléments différemment chromophiles.

ZACHARIAS. — *Bot Zeitung.* 1888.

GUILLERMOND. — Sur le chondriome des Conjuguées et des Diatomées. *C. R. Soc. Biol.* Paris, 1921.

P. DANGEARD. — *Revue Algologique.* N° décembre 1924.

Ce fait tient, nous semble-t-il, non pas à un degré différent de chromaticité de la part de ces fibres, mais bien à leur position dans la masse du chromatophore lui-même.

Dans la masse du chromatophore (voir pl. 3, fig. 7) à des distances un peu inégales et sur son axe se trouvent incrustés les pyrénoïdes qui possèdent un aspect cristallin; ils sont incolores et de forme ellipsoïde.

La signification physiologique du pyrénoïde est encore obscure, on admet qu'il représente une substance de réserve, il est entouré par une collerette de grains d'amidon. D'après les recherches de Schmidt et de Guillermond, les grains d'amidon sont produits non pas par le pyrénoïde, mais par le chromatophore. Nous avons pu obtenir la coloration vitale du pyrénoïde par le bleu de crésyl, le bleu de méthylène et le vert janus. Il se colore également par les méthodes mitochondriales, prend une belle coloration violet foncé par la méthode de Benda, et une coloration noir foncé par l'hématoxyline ferrique. Le chromatophore est l'élément le plus résistant de la cellule au même titre que le noyau.

Outre les grains d'amidon qui forment une couche amylacée autour du pyrénoïde, on en retrouve des grains d'amidon tout le long de l'axe de symétrie du chromatophore. En ce qui concerne l'origine des grains d'amidon, les opinions sont partagées. D'après les recherches de Mme F. Moreau, les grains d'amidon sont un produit propre du pyrénoïde; d'après Guillermond, ces grains seraient un produit

de l'activité du chromatophore. Nous nous rallions à cette dernière opinion en nous appuyant sur le fait que les grains d'amidon n'occupent pas une place bien définie dans la masse du chromatophore, car s'ils entourent le pyrénoïde d'une couche amylacée, par contre, on les retrouve disséminés dans tout le ruban du chromatophore.

Dans la masse cytoplasmique, et dans le chromatophore (tout particulièrement au niveau des pyrénoïdes), se trouvent localisés des globules graisseux de grandes dimensions; ils brunissent sous l'action de l'acide osmique, leur nombre augmente dans certaines phases de l'évolution cellulaire.

La vacuole occupe la plus grande partie de la cellule, elle doit jouer un grand rôle physiologique. On trouve dans la masse vacuolaire les grains métachromatiques qui se présentent sous forme de granulations plus ou moins grandes animées d'un incessant mouvement brownien.

Le noyau se trouve généralement au milieu de la cellule entouré d'une mince couche cytoplasmique, sa forme est lenticulaire, ellipsoïde; il est disposé parallèlement aux parois cellulaires libres.

La division nucléaire des Spirogyres, malgré les diverses recherches de C. Van Wisselingh, Merri-

---

C. Van Wisselingh. — On the nucleolus and Karyokinesi in *Zygmena*. *Rec. trav. bot. Néerl.* X., 1-13, 1914.

— Beitrag zur Kenntnis der Karyokinese. *Beitr. z. bot. Centralbl.* 38. p. 273, 1921.

MAN. TRONDLER et CZURDA, n'est pas encore élucidée, car la signification du nucléole des Spirogyra reste discutable. D'après les recherches de TRONDLER, il n'est pas homologue, par ses réactions microchimiques, aux nucléoles de végétaux supérieurs (*Hyacinthus Vicia*). Chez les Spirogyres, en effet, les nucléoles présentent les réactions des chromosomes, parce qu'ils sont formés de chromatine. CZURDA a combattu les conclusions de TRONDLER. Néanmoins, il se détache de toutes ces recherches, que le nucléole des Spirogyres a la même origine que les chromosomes des végétaux supérieurs.

M.-L. MERRIMAN. — Nuclear division of *Spirogyra*, II Nuclear division in *S. Bellis. Bot. Gaz.* 61 . p. 311, 1916.

A TRONDLER. — Der Nukleolus von *Spirogyra* und die Chromosomen noherer pflanzen. *Zeitsch. für.* Bot. IV, p. 721, 1912.

V. CZURDA. — Zur frage der NukleolusligKeit bei *Spirogyra. Arch. für Protistenk.* 46, p. 346, 1922.

ETUDE DE LA CELLULE D'*ALLIUM CEPA*

L'épiderme interne de la feuille d'*Allium Cepa* est un matériel admirable par les investigations et les observations cytologiques. Il se détache facilement, de sorte qu'en le montant dans un milieu isotonique (7,4 % de saccharose), on peut faire directement par transparence son étude vitale.

Les cellules affectent une forme plus ou moins polyédrique, allongée, très grande, elles possèdent une paroi très mince, à travers laquelle les observations vitales sont faciles.

Dans les cellules jeunes, on observe le noyau placé généralement au milieu de la cellule. Le cytoplasme qui occupe la presque totalité de l'espace cellulaire, donne l'impression d'un milieu homogène renfermant une ou plusieurs petites vacuoles. Ces dernières tiennent en dissolution des composés dans un état plus ou moins concentré et qui en outre, dans cette phase de métabolisme cellulaire, se colorent intensément par le rouge neutre et par le bleu de Nil. A cause de l'état dense et pour ainsi dire, moins

hydraté de ce cytoplasme fondamental, les observations vitales sont en quelques sorte gênées, car le chondriome n'apparaît pas avec la même clarté comme dans les cellules âgées. Dans ces cellules jeunes, le chondriome est représenté par des mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets. On observe aussi un assez grand nombre de boules graisseuses qui se trouvent disséminées dans toute la masse cytoplasmique, tout particulièrement, dans le cytoplasme périnucléaire. Le cytoplasme périnucléaire est moins réfringent que le reste du cytoplasme, tout en ayant l'aspect d'un milieu parfaitement homogène. Il contient un grand nombre de mitochondries granuleuses serrées les unes contre les autres et qui apparaissent dans l'étude *post-mortem*, par le réactif à mélanges égaux de l'iodure de K. à 2 % et d'acide chromique à 2 % comme une petite auréole localisée autour du noyau (voir pl. 1, fig. 2). Un des caractères des boules graisseuses disséminées dans la masse cytoplasmique est de brunir sous l'action de l'acide osmique, c'est justement à l'aide de ce réactif que nous avons pu constater leur présence. Nous avons obtenu assez difficilement la coloration vitale du chondriome par le vert janus et fort peu par le bleu de Nil. Dans cette phase de l'évolution cellulaire, le chondriome semble être en voie de multiplication intense, car on observe que certaines mitochondries n'évoluent pas, elles restent à l'état granuleux ou de très courts bâtonnets. D'autres, au contraire, s'allongent peu à peu pour donner naissance aux grands chondriocontes qu'on observe

dans les cellules adultes. Simultanément on remarque, grâce à l'acide osmique, que la périphérie de ces chondriocontes est remplie de très petites boules de nature graisseuse qui brunissent sous l'action d'une solution d'acide osmique à 1 %. On sait, d'après les récentes recherches cytologiques, que les mitochondries qui n'évoluent pas durant le métabolisme cellulaire constituent les mitochondries inactives ou végétatives; tandis que les autres, qui se transforment par allongement en chondriocontes constituent les mitochondries élaboratrices.

Les cellules âgées (voir pl. 1, fig. 3), sont volumineuses et possèdent un gros noyau appliqué contre un des côtés de la paroi cellulaire. Le cytoplasme est peu abondant et se trouve réduit à une mince couche pariétale enveloppant une grande vacuole qui occupe la presque totalité de la cellule. Le cytoplasme se présente comme une substance parfaitement homogène, transparente, et qui en outre possède des réfrigérences tout à fait dissemblables suivant les régions qu'elle occupe dans la cellule. C'est ainsi que la partie du cytoplasme tapissant les parois cellulaires apparaît plus dense et moins hyaline (tout en étant parfaitement homogène) que le cytoplasme localise près de la grande vacuole, lequel est extrêmement transparent, très hydraté et se distingue à peine sur le vivant et sans coloration vitale de la vacuole. Le cytoplasme périnucléaire a l'aspect d'une substance également homogène, mais moins hydratée et donnant l'impression de posséder une certaine viscosité. La grande vacuole se colore d'une façon

très diffuse par le rouge neutre en prenant une coloration plus ou moins rosée; cela tient à l'état d'extrême dilution de certains composés dissous dans le suc vacuolaire et notamment des composés phénoliques. D'après GUILLERMOND, ces composés phénoliques incolores inclus dans la vacuole, présentent les caractères de tannoïdes, c'est-à-dire, qu'ils se colorent vitalement par le bleu de méthylène, noircissent par les sels ferriques, réduisent l'acide osmique, sont fixés et colorés en jaune par le bichromate de K. D'après les travaux de R. COMBES, ils se distinguent par leurs réactions micro-chimiques des pigments anthocyaniques, par le fait qu'ils donnent une précipitation jaune avec le liquide de COURTONNE, tandis que les pigments anthocyaniques donnent un précipité vert.

La vacuole est traversée par un grand nombre de trabécules qui relient le cytoplasme périnucléaire au cytoplasme pariétal. Ces trabécules paraissent être formées par un cytoplasme homogène mais moins hydraté et semblant posséder une certaine viscosité ce qui fait que dans les cellules âgées, les trabécules apparaissent très nettement sans coloration vitale de la vacuole par le rouge neutre ou le bleu de méthylène.

Le chondriome dans les cellules âgées est représenté par des mitochondries granuleuses et par de courts bâtonnets (d'ailleurs en très petit nombre), et par des chondriocontes qui ont une forme allongée mince, onduleuse souvent ramifiée. On observe, après un certain temps, qu'ils présentent une tendance à

s'enchevêtrer, surtout dans la zone cytoplasmique périnucléaire et dans les angles de la cellule. Ce chondriome qui, comme nous venons de le dire, est représenté dans les cellules âgées par des mitochondries et par les chondriocontes, possède une réfrigérence plus accusée que le cytoplasme, de sorte que l'on peut les distinguer dans la masse cellulaire, et cela sans aucune coloration vitale. Dans les cellules très âgées, les chondriochontes possèdent une coloration jaune très pâle. Au bout d'un certain temps, on voit apparaître des granulations dans ces chondriocontes; tout d'abord elles sont localisées en un endroit de ses bords, peu à peu elles grossissent, à partir de ce moment, elles commencent à brunir sous l'action de l'acide osmique; ces granulations sont donc des globules graisseux, élaborées par les chondriocontes.

Nous avons obtenu en général la coloration vitale du chondriome par le vert janus et parfois par le bleu de Nil. Cependant, on observe une inégale répartition du chondriome dans la cellule; tandis que dans la région qui tapisse la face externe de la cellule, c'est-à-dire celle qui est perpendiculaire au faisceau lumineux, donc perpendiculaire à l'axe visuel; dans cette région, le chondriome est très peu abondant, alors que les autres parties de la cellule possèdent un chondriome qui est très abondant. On observe également dans la cellule un certain courant cytoplasmique qui se traduit par un faible mouvement du chondriome. Les mitochondries granuleuses sont entraînées par ce courant, tandis que le mouvement

du chondrioconte est caractérisé par une faible ondulation. Le courant augmente d'intensité dans la région cytoplasmique périnucléaire et il est très visible dans les trabécules.

A côté du chondriome, on trouve également, dispersés dans la masse cytoplasmique, de petites boules dont le diamètre est plus petit que celui des mitochondries granuleuses, elles sont aussi plus brillantes et ne prennent pas la coloration vitale. Elles prennent une teinte noirâtre sous l'influence de l'acide osmique, elles se déplacent plus rapidement, entraînées par le courant cytoplasmique, que les mitochondries. Si l'on examine attentivement ce mouvement, on voit qu'il présente une certaine trépidation qui rappelle, jusqu'à un certain degré, le mouvement brownien, caractéristique des corpuscules de nature métachromatique inclus dans la masse vacuolaire pendant la première phase de la plasmolyse. On sait d'après les fructueuses recherches de P.-A. Dangeard, que ces organites sont constants dans toutes les cellules végétales. Cet auteur les a nommées « *Microsomes* ». Chiflot et Gauthier, dans leurs recherches sur les cellules d'*Azolla*, ont observé l'entraînement par le courant cytoplasmique de ces boules graisseuses, de même que leurs trépidations. Ils ont admis que ce mouvement leur est propre et que, tout en étant entraînées par le courant cytoplasmique, elles sont aussi douées du mouvement brownien. Guillermond, dans ses recherches, n'a pas pu préciser l'origine des microsomes; ceux-ci ne paraissent pas être en relation avec le chondriome,

ils pourront néanmoins appartenir à la constitution du cytoplasme qui paraît par cette formation, renfermer des lipoïdes en dehors du chondriome. Nous avons pu constater nettement que, pendant la plasmolyse, ils constituent, avec le noyau, les organites les plus résistants de la cellule. A partir du moment où se forment les boules sarcodiques de DUJARDIN, leur mouvement propre à allure brownienne cesse; néanmoins, pendant toute la phase de déshydratation cellulaire, ils ne changent pas d'aspect. Même dans une cellule complètement désorganisée, pendant la phase qui précède la mort, c'est-à-dire celle qui correspond à la réhydratation de la cellule et à sa coloration par l'éosine, ils apparaissent dans la cellule désorganisée sans la moindre altération.

Le noyau se trouve appliqué sur une des parois cellulaires; il possède un ou plusieurs nucléoles et un caryoplasme très condensé, ce qui est dû à l'existence d'un réseau chromatique assez serré.

CELLULE EPIDERMIQUE

DE LA FEUILLE DE « *VITIS VINIFERA* » L. Am.

La feuille de *Vinis Vinifera* L., (voir pl. 4, fig. 11 et 13) est un matériel assez favorable aux investigations vitales; elle possède un épiderme épais qu'on peut détacher facilement avec un scalpel (voir technique). Nous avons fait l'étude cytologique de cet épiderme dans un milieu isotonique (saccharose à 7,6 %) additionné de traces de colorants vitaux, tels que le vert janus pour les investigations concernant le chondriome, ou de rouge neutre pour observer l'état de l'évolution vacuolaire. En outre, les cellules épidermiques possèdent l'avantage d'être assez grandes et d'avoir un cytoplasme suffisamment transparent, à aspect homogène et hyalin.

Suivant la position qu'occupe la cellule dans l'ensemble du tissu qui nous intéresse, le noyau se trouve localisé ou au milieu de la cellule — cellules jeunes — ou appliqué contre un des côtés de la paroi cellulaire — cellules âgées. Dans les cellules jeunes, le cytoplasme est hyalin, homogène, souvent finement granuleux (réactif à mélanges égaux d'iodure de K.

à 2 % et d'acide chromique à 2 %). Il renferme une ou plusieurs vacuoles allongées, ovales ou arrondies, colorées d'une façon très diffuse par le rouge neutre ou le bleu de Nil. Pendant l'évolution cellulaire les vacuoles vont se fusionner pour donner naissance à la grande vacuole qu'on trouve dans les cellules adultes.

Le cytoplasme renferme quelques gouttelettes graisseuses qui brunissent sous l'action de l'acide osmique (solution aqueuse 1 %) et se déplacent plus rapidement que les éléments du chondriome dans le courant cytoplasmique. Le chondriome est représenté par des miotchondries granuleuses, de courts bâtonnets et des chondriocontes plus ou moins développés, imprégnés de chlorophylle, formant sur leur trajet de petits renflements. Nous avons constaté que ces chondriocontes amylogènes possèdent en certains endroits des points minuscules qui brunissent sous l'action de l'acide osmique et qui sont vraisemblablement des inclusions graisseuses.

Dans la masse cytoplasmique, on observe également de petites boules (leur nombre varie dans ces cellules de 2 à 5) qui brunissent fortement par l'acide osmique; elles possèdent un mouvement propre rappelant jusqu'à un certain point le mouvement brownien, ces boules constituent les « michrosomes » de P.-A. Dangeard.

Dans les cellules âgées, le cytoplasme est peu abondant et se trouve localisé dans une mince couche pariétale entourant une grande vacuole qui occupe la plus grande partie de la cellule. La vacuole est

traversée par de minces trabécules dans lesquels on peut distinguer assez facilement un faible mouvement cytoplasmique, qui se traduit par un lent déplacement des mitochondries granuleuses et un déplacement plus rapide des boules graisseuses. Les trabécules relient le cytoplasme pariétal au cytoplasme périnucléaire. Le noyau dans ces cellules âgées est rejeté contre la paroi cellulaire.

Le cytoplasme est hyalin, homogène, souvent finement granuleux (réactif à mélanges égaux d'iodure de K. à 2 % et d'acide chromique à 2 %) il laisse voir son contenu dans lequel on observe un chondriome très peu abondant. Suivant les régions que le cytoplasme occupe dans la cellule, sa réfringence varie. Sur le vivant, en milieu isotonique 7,6 % de saccharose et sans coloration vitale, le cytoplasme qui entoure le noyau, et certains trabécules sont moins réfringents que le reste du cytoplasme, il se distingue à peine de la vacuole. Le cytoplasme pariétal, au contraire, paraît plus dense et moins hyalin. Mais, que ce soit la partie cytoplasmique qui touche la grande vacuole ou le cytoplasme pariétal, l'homogénité est la même. Cela tient, nous semble-t-il, non pas à un changement dans la composition chimique du cytoplasme, mais au degré de serrement des mailles cytoplasmiques et probablement aussi à l'épaisseur de la couche cytoplasmique. Sur le vivant, grâce à la coloration que prennent les composés vacuolaires plus ou moins dispersés dans le suc vacuolaire par le rouge neutre, coloration qui fait enlever et détacher nettement la vacuole sur le reste

de la cellule, on observe que la couche cytoplasmique est traversée par de très fins trabécules plus ou moins hyalins, homogènes, et dans lesquels sont entraînés les mitochondries granuleuses et les boules graisseuses par le faible courant cytoplasmique. Dans le cytoplasme pariétal, le mouvement cytoplasmique est bien moindre que dans les trabécules. Il se traduit par de faibles oscillations des mitochondries granuleuses qui donnent parfois l'impression d'être entraînées par le courant.

Dans les cellules âgées, le chondriome est représenté par des mitochondries granuleuses, de courts bâtonnets et des chondriocontes plus ou moins allongés. Les chondriocontes renferment sur leur trajet quelques petites inclusions graisseuses qui brunissent sous l'action de l'acide osmique. Néanmoins, ces cellules peuvent être caractérisées par la pauvreté de leur contenu en chondriome. On observe également dans la masse cytoplasmique des corpuscules dépassant de peu la grandeur des mitochondries granuleuses, mais possédant un brillant tout particulier, elles brunissent sous l'action de l'acide osmique : ce sont les « *microsomes* » de P.-A. Dangeard.

Le noyau se trouve rejeté dans ces cellules âgées contre l'une des parois cellulaires. Il possède un caryoplasme très finement granuleux dû, vraisemblablement, à un réseau chromatique très serré. Enfin, il contient un ou plusieurs nucléoles qui prennent une belle coloration brun acajou, par le réactif à volumes égaux d'iodure de K. à 2 % et d'acide chromique à 2 %.

Dans les observations faites sur des coupes fixées et colorées, soit par la méthode IV de Regaud, coloration selon Heidenhain à l'hématoxiline ferrique, soit par la méthode de Champy, coloration selon la méthode de Küll à la fuchsine acide, soit coloration par la méthode d'Altmann modifiée, fixation par la méthode de Benda, coloration selon Benda (voir technique), nous avons obtenu des résultats superposables à ceux auxquels nous sommes arrivés par les méthodes d'examen sur le vivant.

La méthode de Champy suivie de la coloration de Kull ou d'Altmann modifiée (voir technique), nous a fourni les meilleurs résultats. Les cellules épidermiques possèdent, d'une façon générale, le même aspect. Un examen attentif cependant montre des degrés différents dans l'évolution de leur métabolisme. Leur cytoplasme est localisé dans une couche pariétale, parfaitement homogène, il renferme plusieurs plastes et des gouttelettes graisseuses qui brunissent sous l'action de l'acide osmique. Leur chondriome est très pauvrement représenté. Elles ont une vacuole renfermant des composés phénoliques qui brunissent sous l'action de l'acide osmique. La vacuole est traversée par de fins trabécules, qui contiennent des mitochondries granuleuses. Le noyau, suivant le stade du métabolisme cellulaire, se trouve soit au milieu de la cellule, soit contre une des parois cellulaires. Dans ce noyau on voit un ou plusieurs nucléoles et un caryoplasme finement granuleux dû à un réseau chromatique très serré. La méthode de Champy permet en outre d'observer très nettement les inclu-

sions graisseuses qui sont réunies parfois en amas et sont localisées sur le trajet des chondriocontes.

Le cytoplasme, après coloration selon Küll, à la fuchsine acide, prend une teinte rose très pâle ou rouge orange foncé. Dans la masse cytoplasmique, le chondriome est représenté par un petit nombre de chondriocontes allongés, par des mitochondries granuleuses et de courts bâtonnets colorés en rouge foncé par la fuchsine. Sur les chondriocontes sont localisés de minuscules points d'un brun noirâtre ou des amas bruns plus ou moins clairs; ces points et ces amas sont des inclusions graisseuses qui brunissent sous l'action de l'acide osmique. Dans certaines cellules, les globules graisseux peuvent faire complètement défaut sur le trajet des chondriochorites.

Par la méthode de coloration d'Altmann modifiée, le cytoplasme prend une teinte jaune orangé plus ou moins foncée. Sur ce fond jaune orangé le chondriome qui est coloré en rose foncé se détache avec une grande netteté. Par cette méthode, les inclusions graisseuses localisées dans la masse cytoplasmique ou sur le trajet des chondriocontes apparaissent plus nettement. La vacuole, suivant sa teneur en composés phénoliques, apparaît plus ou moins noircie par l'acide osmique. Les nucléoles sont colorées en jaune par la méthode d'Altmann modifiée tandis que par la méthode de Küll ils se colorent en rouge orange foncé.

La méthode de Regaud (coloration à l'hématoxyline ferrique), malgré l'inconvénient qu'elle a de ne pas conserver les graisses, donne d'excellentes figures du

chondriome et des plastes (chromoplastes, leucoplastes et chloroplastes). Ces derniers forment de petits renflements, soit à l'extrémité des chondriocontes, soit sur leur trajet, et sont colorés d'une manière très diffuse par l'hématoxyline ferrique, par contre ils brunissent fortement par l'acide osmique (Méthode de Champy). Par ce mode de réaction, ces petits renflements sont de minuscules amas d'inclusions graisseuses. Puis dans un stade ultérieur, ces renflements élaborent un grain d'amidon, ils ne noircissent plus par l'acide osmique, tandis qu'ils brunissent fortement par l'hématoxyline ferrique. Puis le chondrioconte s'effile dans une région toute proche de ces renflements, et, dans une dernière phase, le chloroplaste se sépare par rupture de la partie effilée du chondrioconte.

Par la suite, ces chloroplastes apparaissent comme de petits corpuscules arrondis ou ellipsoïdes, qui prennent, par l'hématoxyline ferrique, une coloration moins foncée qu'au début de leur évolution. Certains plastes sont pourvus d'un vestige du chondrioconte dans lequel ils ont pris naissance, au fur et à mesure que le chloroplaste évolue, cet appendice disparaît et, finalement, le plaste présente sa forme définitive, arrondie ou ellipsoïdale.

CELLULES D'*ELODEA CANADENSIS*

Dans l'*Elodea Canadensis* (voir pl. 4, fig. 12) les cellules du bourgeon et les cellules marginales des écailles axillaires présentent un matériel facile pour l'étude vitale de la cellule. Dans ces cellules, en effet, les troubles osmotiques se font sentir très lentement. En montant une préparation dans un milieu isotonique à 7,2 % de saccharose et en l'additionnant de quelques traces de colorants vitaux (rouge neutre ou vert janus), nous avons pu étudier sur le vivant la marche de la plasmolyse déterminée par les dissolutions des sels de cuivre.

Nous avons fait également des observations sur coupes fixées et colorées par la Méthode IV de Regaud, ou par celles de Benda et de Champy.

La section longitudinale d'une cellule assez évoluée d'*Elodea Canadensis*, est plus ou moins rectangulaire; le cytoplasme est parfaitement hyalin, homogène et fortement hydraté, car il possède un grand indice de fluidité. Il a la même réfringence sur toute son étendue et présente un mouvement fort prononcé. Grâce à ces propriétés, on distingue très nettement

la vacuole sur le vivant sans qu'il soit nécessaire de la colorer par le rouge neutre.

En faisant varier l'intensité de la lumière, on observe le chondriome avec une extrême facilité. Il est représenté dans les cellules jeunes par des mitochondries granuleuses, par de courts bâtonnets et par des chondriocontes très peu allongés. Il est localisé de préférence au voisinage du noyau, le reste de la masse cytoplasmique en renferme peu. Néanmoins, nous avons pu voir que le cytoplasme éloigné du noyau renferme des inclusions de nature graisseuse qui brunissent fortement par l'acide osmique. Dans les cellules plus évoluées, celles des écailles par exemple, le chondriome est plus abondant, dispersé dans toute la masse cytoplasmique. Il est représenté par des mitochondries granuleuses, par de courts bâtonnets plus ou moins épais, et par des chondriocontes, allongés, flexueux (voir pl. 4, fig. 12) qui portent sur leur trajet des renflements, situés généralement près de l'une de ses extrémités. A partir d'un certain moment, la zone située près d'un de ces renflements s'étire, puis le chondrioconte se coupe dans un endroit de cet étirement, et un chloroplaste se détache. Ce chloroplaste conserve encore, pendant un certain temps, un fragment du chondrioconte qui lui a donné naissance. Peu à peu, les corpuscules ainsi formés grossissent et donnent les volumineux chloroplastes, qui se colorent fortement par les méthodes mitochondriales. Ils possèdent les mêmes caractères hysto-chimiques que les mitochondries, *in Vivo*, ils sont entraînés par le fort courant cytoplasmique, et se mêlent aux éléments du chondriome.

Les chloroplastes complètement évolués sont, avec le noyau, les organites cellulaires qui résistent le mieux aux troubles osmotiques et aux intoxications par les sels de cuivre. Durant le stade de la plasmolyse qui précède immédiatement la mort cellulaire, en effet, les chloroplastes apparaissent, au milieu de la cellule complètement désorganisée, avec le même aspect qu'ils avaient au début de la plasmolyse. Certains d'entre eux pourtant sont fortement contractés, probablement parce qu'ils ont été saisis avant leur incomplète évolution.

Dans notre étude sur la plasmolyse de cette cellule, nous avons observé nettement que la formation ainsi que l'évolution sont stimulées activement par les solutions de sels de cuivre comprises entre celles de l'ordre de 2 % et 1 % et tout particulièrement, avec les sels de cuivre d'origine minérale.

Nous avons obtenu la coloration vitale du chondriome par le vert janus. Cette coloration apparaît d'autant plus clairement que le chondriome arrive à une phase plus stable de son évolution. Dans les cellules jeunes, même lorsque nous avons obtenu une coloration, celle-ci était très effacée. La coloration est due dans ce cas, probablement bien moins au vert janus qu'à la chromaticité propre aux chondriocontes tandis que dans les cellules plus âgées, on observe nettement l'influence du colorant.

Dans les cellules âgées, la vacuole occupe la plus grande partie de la cellule, le cytoplasme forme une couche pariétale assez épaisse. La vacuole est traversée par de minces trabécules qui sont le siège d'un

mouvement cytoplasmique intense; celui-ci entraîne le chondriome et tout particulièrement les mitochondries granuleuses et les boules graisseuses. Ces dernières ont un diamètre plus petit que celui des mitochondries granuleuses, elles possèdent un brillant tout particulier, et en outre sont entraînées plus rapidement que les mitochondries par le mouvement cytoplasmique.

Dans les cellules jeunes, on observe sur le vivant, grâce au rouge neutre, que le système vacuolaire est représenté par plusieurs petites vacuoles dont la forme change d'un moment à l'autre; nous n'avons pas pu saisir en deux instants successifs le même contour vacuolaire. Cela est dû, il nous semble, à l'intensité des phénomènes purement osmotiques dont ces jeunes cellules sont le siège. La vacuole renferme des composés qui semblent être de nature phénolique car elles brunissent fortement par l'acide osmique (solution aqueuse à 1 %). Le brunissement possède un inégal degré dans ses manifestations, tandis que certaines vacuoles se colorent fortement, d'autres, au contraire, où les composés sont moins abondants, ne changent pas de teinte.

Le noyau, suivant l'âge de la cellule, se trouve situé au milieu ou rejeté contre l'une des parois de la cellule.

Nous avons obtenu après fixation par le Regaud IV et coloration selon Heidenhain à l'hématoxyline ferrique, d'excellentes préparations (voir pl. 4, fig. 12).

INTERPRÉTATION CYTOLOGIQUE

DE LA PLASMOLYSE

L'effet du milieu hypertonique se fait sentir après une durée de contact plus ou moins longue ; sa manifestation dépend de l'emplacement qu'occupe la cellule dans le tissu. Celle-ci peut être différente chez deux cellules contiguës, et en apparence, identiques; c'est que l'action du milieu hypertonique varie suivant le comportement de la cellule vis-à-vis du milieu ambiant, suivant le degré d'évolution cellulaire et suivant la nature des parois (cellulaires). Ces dernières sont des gels, c'est-à-dire des colloïdes amenés à l'état plus ou moins rigide qui ont en outre la propriété d'être réversibles. Ils possèdent, en effet, cette remarquable propriété de se dessécher même complètement, et cela sans perdre la propriété de se gonfler sous l'influence de l'eau. Ils peuvent se dissoudre sous l'influence de certains agents physico-chimiques qui interviennent durant le phénomène de la plasmolyse. La paroi cellulosique, peut être une membrane, mais c'est une membrane qui ne compte

pas pour les sels; c'est un simple cadre de soutien fonctionnant tout au plus comme ultra-filtre, et tous les travaux faits dans cet ordre d'idées sont d'accord pour refuser à cette paroi un rôle dans l'ensemble du phénomène qui nous intéresse. Cette membrane cellulaire, bien différenciée, d'épaisseur définie et mesurable, ce colloïde complexe renfermant des lipoïdes, ne joue qu'un rôle très effacé dans tout l'ensemble du phénomène, et il nous semble, en effet, que la plasmolyse dépend non pas de cette membrane cellulosique, mais de quelque chose qui fait corps avec le cytoplasme et qui se rétracte avec lui dans le lumen cellulaire. Il s'agit d'un milieu qui est interposé entre l'ambiance et le complexe cellulaire. D'autre part, il nous semble que la plasmolyse dépend étroitement de l'évolution vacuolaire. Nous avons pu voir nettement que l'aspect, la forme, et surtout les composés inclus dans le suc vacuolaire, règlent pour ainsi dire l'apparition et les phases de la plasmolyse. Le suc vacuolaire est un milieu qui, durant le phénomène, joue le rôle le plus important.

Un autre facteur qui affecte la cellule est le degré de concentration de la solution plasmolysante.

Dans ce chapitre, nous allons tenter de donner une interprétation cytologique de ce problème.

La plasmolyse, et surtout ses premiers symptômes, constituent le chapitre le plus important de la physiologie générale, car elle résume la presque totalité des phénomènes de la nutrition minérale. C'est parce que la cellule est capable de se plasmolyser que les sels minéraux dissous passent à travers les interstices

cellulaires et à travers la membrane, et par conséquent, que la vie est possible. Les échanges incessants dont la cellule est le siège, assurent par de faibles discontinuités la continuité de la vie. En changeant la composition du contenu cellulaire suivant le milieu ambiant, la plasmolyse permet en outre de nous rendre compte de tous les petits détails de structure que présentent les organites cellulaires durant le phénomène.

De Vries a entrepris le premier des recherches en vue d'élucider ce problème qui d'ailleurs n'était pour lui qu'une étude accessoire. Le but principal que cet auteur poursuivait étant la formation des vacuoles et des parois périvacuolaires, il a omis de décrire les changements que l'on observe durant la plasmolyse dans la structure fine du cytoplasme et dans l'évolution du noyau. D'autres, comme Schwartz, Chodat et Bourbier, Matruchot et Molliard qui ont repris la question, ont exposé dans leurs courtes études des interprétations incomplètes. Cependant, Matruchot et Molliard ont écrit un chapitre intéressant de la plasmolyse; ils ont donné une fidèle interprétation de l'éclatement du noyau dans le dernier stade du phénomène.

Dernièrement, Guillermond a repris la question, et, dans une étude magistrale, il a étudié le phénomène de la plasmolyse dû aux dissolutions hypertoniques de chlorure de Na. et de saccharose.

Nous avons repris la question et nous allons tenter d'interpréter ce phénomène en utilisant les solutions hypertoniques de sels de cuivre, qui depuis les travaux

de Milliardet, sont restés, malgré toutes les critiques et tous les succédanés proposés, la base des traitements anticryptogamiques.

Dès le commencement, nous allons faire la remarque suivante : *Tous les sels de cuivre, à des doses limites compatibles avec la vie cellulaire, sont toxiques; mais cette toxicité suit une loi qui s'écarte des lois générales, par lesquelles nous sommes habitués à exprimer la toxicité des sels.* Si l'on exprime cette toxicité par des nombres, on s'aperçoit que ceux-ci sont, à quelques unités près, du même ordre de grandeur, tout en étant fonction : 1° De la concentration hypertonique; 2° de la durée de contact entre la cellule et le milieu plasmolysant ; 3° de l'emplacement qu'occupe la cellule dans le tissu ; 4° de l'état de l'évolution cellulaire.

La plasmolyse se manifeste avec une clarté parfaite lorsque l'on met en contact pendant un temps qui varie entre 3 minutes et plusieurs heures (parfois jusqu'à 24 heures) des solutions dont les concentrations sont comprises entre 5 p. 100 et 1 p. 1.000. L'intensité du phénomène varie avec la nature du sel, que celui-ci soit organique ou minéral, elle varie aussi avec l'état de l'évolution cellulaire; car pour suivre le phénomène dans toute sa complexité, nous avons fait appel à des dissolutions moyennes dont la concentration est comprise entre 2 p. 100 et 1 p. 500; étant donné que, dans le cas des solutions fortes, dont la concentration est de l'ordre de 7 p. 100, nous avons à faire à une plasmolyse fixation, dans laquelle toutes les phases de la plasmolyse sont réduites à une

seule, une « pseudo-fixation ». Cette pseudo-fixation représente, nous semble-t-il, non pas une précipitation presque instantanée compatible avec la vie cellulaire, sans bouleversement du contenu cellulaire, mais une hydratation du cytoplasme, suivie d'une coagulation qui bouleverse l'organisation de la cellule; dans ce cas, il nous a été impossible de saisir le moindre détail de la plasmolyse.

En ce qui concerne les solutions faibles (concentrations comprises entre 1 p. 5.000 et 1 p. 100.000 et au delà), la faiblesse de la concentration nous a donné l'impression qu'il s'agit alors, non pas d'un milieu hypertonique, mais bien d'un milieu hypotonique, car, comme nous allons le voir, c'est bien le milieu hypotonique qui agit et qui efface, pour ainsi dire, l'influence de l'excitation de la faible solution plasmolysante.

Tout au début de la plasmolyse (ce qu'on peut marquer par le refus de la coloration vitale), on observe dans la cellule une période d'excitation qui se traduit par une faible intensité du courant cytoplasmique (1). Les cellules de *Vitis vinifera L.*, d'*Allium Cepa L.*, et tout particulièrement celles d'*Elodea Canadensis Rich.*; nous montrent que ce courant ne possède pas une direction bien définie, mais au contraire, des directions quelconques. Car

(1) Généralement, dans une cellule normale étudiée en milieu isotonique, le mouvement cytoplasmique possède une direction bien définie, le courant balaie les parois cellulaires en se dirigeant vers le noyau et possède toujours une intensité bien régulière.

certains trabécules possèdent une direction centripète allant de la périphérie vers le noyau, tandis que d'autres possèdent une direction centrifuge, allant du noyau vers les parois cellulaires. Cela tient, il nous semble, à un inégal degré d'excitabilité du cytoplasme, dû à une inégale pénétration du milieu hypertonique à travers les interstices de la membrane cellulaire, ce qui détermine un changement de la composition du milieu cellulaire. On sait que le contenu cellulaire, comme l'a montré dernièrement P.-A. Dangeard, en s'appuyant sur le phénomène de la métachromasie n'est pas un milieu neutre. Dangeard a montré, en effet, que le suc vacuolaire possède, au moins pendant la plus grande partie de son évolution, une réaction alcaline, et c'est bien la métachromasie (rouge neutre, bleu de Nil, vert janus, violet de dahlia) qui le révèle.

Cette alcalinité est détruite durant l'évolution cellulaire, car à partir d'un certain moment, le phénomène de la métachromasie cesse d'apparaître, et à ce moment, la métachromatine du suc vacuolaire possède une réaction acide : la vacuole est vieille.

Le cytoplasma (1) possède dans son premier stade

---

(1) Le cytoplasme n'est pas un composé tout à fait liquide, c'est un colloïde très hydraté, mais ce n'est pas un hydrosol; il a certainement certaines propriétés de ténacité et d'élasticité qui le sépare des liquides vrais, mais c'est encore moins un hydrogel; c'est un liquide, puisqu'il manifeste la tension superficielle, il coule; ses parties composantes (micelles) sont astreintes à se tenir à une distance fixe les unes des autres. Pour cette cohésion particulière du cytoplasma, Bottazi a proposé, en 1923 (I Sistemi colloïdall des organismo vivante. *Archivio di Scienze biologiche*, t. IV, p. 443, 1923), le nom de *gliode*.

d'évolution, une réaction alcaline et vers la fin de son évolution, sa réaction est tantôt neutre, tantôt acide. Il nous semble que cette inconstance dans la réaction du contenu cellulaire, doit avoir une grande influence sur l'apparition du phénomène de la plasmolyse, sur son degré, sur sa marche, et sur son aboutissement. Car, précisément, le premier symptôme de la plasmolyse, qui se traduit par une augmentation du courant cytoplasmique, nous indique amplement, que l'équilibre biologique cellulaire a été rompu dans la cellule. La charge positive ou négative des ions simples ou des ions complexes qui ont pu pénétrer dans la cellule, détermine ce changement. Le contenu cellulaire, par son mouvement, tend à rétablir l'équilibre rompu. C'est une simple hypothèse, mais bien logique, sur ce complexe mouvant et obscur de la vie, car au fur et à mesure que l'équilibre est rétabli, le mouvement cytoplasmique diminue d'intensité et si on change de milieu en passant de l'hypertonicité à l'isotonicité, cette dernière rétablit les conditions d'équilibre.

Ce phénomène est mis en évidence grâce au fait que le mouvement cytoplasmique redevient normal. Les courants qui, dans une cellule en milieu isotonique (saccharose à 7,2 %, 8,4 %), sont à peine visibles, sauf, dans des cas exceptionnels comme pour l'*Elodea Canadensis* et fort peu visibles pour l'*Allium cepa*, intensifient leurs mouvements qui se transmettent petit à petit par induction. Ce rôle inducteur semble revenir en grande partie aux trabécules, car, à partir d'un certain moment (sous l'influence de l'excitation

du milieu), leurs bords commencent à présenter une faible ondulation qui a l'aspect d'une courbe sinusoïdale à flèche et allongement plus ou moins prononcé, et à déformation plus ou moins accusée. En même temps, la réfringence du cytoplasme augmente. Nous avons pu observer que cette augmentation de la réfringence du cytoplasme prend naissance justement, comme c'est le cas des Spirogyres, dans les trabécules qui relient le cytoplasme périnucléaire au cytoplasme pariétal. C'est grâce à cette modification de la réfringence, observée avant la coloration vitale, que nous avons pu voir chez les Spirogyres, que le cytoplasme périnucléaire est relié par de très fins trabécules, d'une part, à la mince couche de cytoplasme qui tapisse les parois cellulaires, et d'autre part, à certains pyrénoïdes du chromatophore. Nous avons constaté le même fait chez *Vitis vinifera* et *Allium cepa :* tout au début de la plasmolyse, la réfringence cytoplasmique augmente; nous avons enfin observé ce phénomène, et cela, avec une clarté parfaite, dans la cellule d'*Elodea Canadensis.*

Tant que le mouvement cytoplasmique reçoit l'excitation du dehors, il croît vers un maximum qui se traduit précisément, d'une part, par un affaiblissement des réactions de la substance cytoplasmique intra-trabéculaire, et d'autre part, par une accélération du mouvement du cytoplasme périnucléaire et pariétal. On assiste ainsi, nous semble-t-il, à des changements purement chimiques, qui tendent par leurs manifestations, à rétablir l'équilibre rompu. On se rend bien compte de cette augmentation de l'inten-

sité des mouvements cytoplasmiques en observant les mitochondries granuleuses et les boules graisseuses. Ces organites, qui jusqu'alors se déplaçaient lentement, entraînées par le courant cellulaire, prennent une allure plus rapide quelque peu désordonnée, preuve que ce sont bien des réactions chimiques à effets inégaux qui donnent pour ainsi dire cette image.

Il est à remarquer cependant que les chondriochontes, à ce stade de la plasmolyse, continuent à se déplacer d'une façon très lente, mais au lieu de demeurer rectilignes, ils prennent une forme plus ou moins arquée dont la courbure varie, chez un même organite, d'un instant à l'autre.

Pendant ce temps, les composés plus ou moins stables et définis qui se trouvent à l'état de suspension dans le suc vacuolaire, commencent à présenter une tendance à se prendre en masse. On peut admettre, à notre avis, que ce phénomène constitue le premier symptôme de la plasmolyse. Lorsque ce phénomène diminue ou cesse, en effet, on assiste à des changements vacuolaires d'ordre purement physique ; les corpuscules métachromatiques commencent à présenter un mouvement qui rappelle jusqu'à un certain degré, le mouvement brownien.

A partir de ce moment, marqué par un début de trouble osmotique, le cytoplasme commence à se colorer par les colorants vitaux, d'abord légèrement, même très confusément, puis, au fur et à mesure que la plasmolyse accomplit son œuvre, la colorabilité devient de plus en plus marquée. Durant cette phase d'excitation cellulaire, marquée par la pénétration des

colorants vitaux, la coloration de la cellule demeure diffuse, elle deviendra nette seulement, lorsque la cellule présentera des signes manifestes d'altération.

Les trabécules s'amincissent progressivement, en même temps que, nous semble-t-il, leur contenu devient de plus en plus dense. Le mouvement cytoplasmique qui avait pris naissance dans ces trabécules, s'atténue, tandis que, dans la masse cytoplasmique, le courant prend une intensité très accusée. Cet état de la cellule traduit par les mouvements cytoplasmiques, nous donne le droit d'affirmer que l'équilibre biologique étant rompu, la cellule s'efforce de le rétablir, grâce justement au seul moyen qu'elle possède : le mouvement cytoplasmique. Ces faits nous montrent en outre, le rôle effacé que jouent dans l'ensemble des phénomènes purement biologiques, les parois cellulaires.

En même temps, les organites se trouvant dans les trabécules se colorent avec une grande netteté par les colorants vitaux, et cette netteté va peu changer jusqu'à la fin de la plasmolyse, compatible avec la vie cellulaire, ou pour mieux dire, jusqu'à la coloration de la vacuole par l'éosine.

Le courant cytoplasmique augmente d'intensité, il entraîne d'une manière nette, non seulement les mitochondries et les boules graisseuses, mais aussi les chondriocontes, dont au stade antérieur de la plasmolyse, les mouvements consistaient en de simples oscillations.

Pendant ce mouvement, les chondriocontes sont susceptibles de prendre diverses formes zigzagantes.

Pendant cette phase de la plasmolyse, les chondriocontes semblent s'anastomoser, forment des enchevêtrements autour du noyau (ceci se remarque surtout dans les cellules qui sont âgées et dans lesquelles le noyau se trouve rejeté contre la paroi).

Après un contact plus ou moins long, cet enchevêtrement disparaît, et les chondriocontes recommencent leur mouvement, dont la vitesse augmente au fur et à mesure que ces organites se rapprochent des angles de la cellule. En même temps, la couche de cytoplasme pariétal s'amincit. Ce phénomène apparaît avec une clarté parfaite dans les cellules « d'*Allium cepa* et d'*Elodea canadensis* », nous avons pu l'observer dans d'autres cellules, comme celles de *Vitis vinifera*, où il est plus difficile à mettre en évidence.

A partir d'un certain moment que nous ne pouvons d'ailleurs pas définir, cette excitabilité du cytoplasma est transmise à la vacuole qui commence à se contracter en se déshydratant. Le mouvement brownien des corpuscules inclus dans la vacuole se ralentit, on peut dire que la plasmolyse est déclanchée, et que la période d'excitation a pris fin. Il faut retenir, et nous insistons sur ce point, que la cellule est restée vivante car, si nous la faisons passer d'un milieu hypertonique dans un milieu isotonique, on constate, souvent au bout d'un temps très court, que le milieu isotonique déclanche un retour en arrière dont la rapidité est plus grande que celle de la plasmolyse provoquée antérieurement par le milieu hypertonique.

Le contenu cellulaire semble rentrer dans sa vie

normale, car, même la faible coloration de certains organites cellulaires due aux colorants vitaux, et tout particulièrement au rouge neutre, s'efface peu à peu. Après un certain temps de contact, la vacuole est complètement décolorée. Cette première phase de la plasmolyse dont nous venons de donner la description correspond à un état fort voisin de l'état normal, très difficile à mettre en évidence, étant donnée la pauvreté des moyens d'investigation que nous possédons en cytologie. Ce retour en arrière provient d'une extrême sensibilité des organites cellulaires à l'influence du milieu. Son existence étant demeurée jusqu'à présent inaperçue, il nous semble que l'obscurité qui a régné dans toutes les recherches faites sur cette question, tient à ce que l'on s'est attaché à donner une représentation trop schématique du phénomène. Comme nous venons de le dire, un changement de milieu pour une cellule arrivée à cette phase, détermine un retour en arrière, plus brusque que celui dû à l'action du milieu plasmolysant. Si l'on admet que les éléments cellulaires sont liés par des forces attractives, que nous pouvons supposer inhérentes à toute vie cellulaire, ces forces tendront à rétablir l'équilibre rompu; de sorte que, les forces de cohésion résultant du rapprochement des micelles seront beaucoup plus petites et plus instables; s'il en est ainsi, rien ne s'opposera donc dans cette phase à un retour en arrière.

Arivée à ce stade, la cellule semble se maintenir dans ce pseudo-équilibre pendant un certain temps, car si on laisse le milieu plasmolysant accomplir son

œuvre, on observe des phénomènes de plus en plus caractéristiques de la plasmolyse.

Tout d'abord, la vacuole commence à être affectée par le milieu plasmolysant, et à partir de ce moment, on est en droit de dire qu'une autre phase de la plasmolyse prend naissance, celle-ci commence à exuder son eau de constitution, de combinaison et de saturation. Cette contraction de la vacuole entraîne dans son mouvement le cytoplasme qui commence à se détacher par places des parois cellulaires (voir pl. 2, fig. 6). Ce décollement du cytoplasme semble dû, non seulement à la contraction de la vacuole, mais aussi, au commencement de rigidité que présente le cytoplasme. Il prend un aspect plus réfringent; de plus, sa transparence et sa fluidité ont presque disparu.

Nos observations sur la cellule d'*Elodea Canadensis* nous ont montré ces modifications d'une façon très évidente. Le courant cytoplasmique dans les trabécules a cessé complètement, tandis que dans le cytoplasma qui tapisse les parois cellulaires, ce courant a augmenté encore de vitesse. Nous avons vu les éléments du chondriome, ainsi que les boules graisseuses, se déplacer plus rapidement; mais leur vitesse diminue au fur et à mesure qu'ils se rapprochent du cytoplasma périnucléaire; puis leurs mouvements cessent presque totalement pour réapparaître ensuite. Les chondriocontes ont une tendance à s'enchevêtrer par place, sans toutefois rester dans cette position.

La vacuole, sous l'influence du milieu plasmolysant, continue à se contracter en se déshydratant; cette

contraction détermine un décollement de plus en plus accentué du cytoplasma. Il quitte par place les parois cellulaires. Ce décollement s'effectue de deux manières différentes. Dans les cellules dont la section est voisine d'un carré, cas de certaines cellules d'Elodea Canadensis, le décollement s'effectue sur toute l'étendue des parois, tandis que dans les cellules à section rectangulaire comme chez le *Vitis vinifera* et l'*Allium cepa*, il a lieu seulement sur les bords latéraux de la cellule. Lorsque le cytoplasme périphérique est ainsi contracté, il forme une surface gauche dont la section est une courbe à allure plus ou moins sinusoïdale.

La réfringence du cytoplasme s'accroît fortement, et sa portion périnucléaire tend alors à former des petites vacuoles ; celles-ci sont particulièrement visibles lorsque l'on utilise des solutions plasmolysantes à forte concentration (de l'ordre de 3 p. 100). Les résultats sont très nets avec les sels de cuivre d'origine organique (formiate de cuivre par exemple).

Les mitochondries granuleuses amincissent leurs parois et présentent une faible tendance à se gonfler. Ce changement du volume des mitochondries qui s'arrête à cette forme, tant que la cellule est vivante, détermine un ralentissement de leur mouvement dans le courant cytoplasmique. En même temps, elles perdent beaucoup de leur chromicité, toutefois, on peut les mettre parfaitement en évidence à l'aide des colorants vitaux (vert janus) qui les colore nettement.

L'ensemble cellulaire sous l'influence du milieu plasmolysant continue sa contraction, en liaison avec la diminution du volume vacuolaire, comme nous venons de le voir.

Ce décollement du protoplaste s'effectue avec une certaine complexité. Tout d'abord en se contractant, le cytoplasme laisse collée une partie de sa substance sur les parois cellulaires; puis on voit apparaître d'une façon très claire, grâce au colorant (violet de gentiane), des espèces de filaments qui assureront la liaison, durant toute cette phase, entre la masse cytoplasmique ainsi contractée et la pellicule cytoplasmique qui est restée collée contre les parois. Cette continuité entre masse et pellicule cytoplasmique apparaît d'une manière de plus en plus claire, au fur et à mesure que la plasmolyse accomplit son œuvre.

En même temps, la masse cytoplasmique s'amincit et devient plus dense, ou pour mieux dire, elle diminue de volume. Cette diminution du volume amène justement une augmentation de la réfringence. Le cytoplasma qui entoure la vacuole, commence à se désorganiser et sa manifestation est la suivante : le cytoplasma périvacuolaire commence à se transformer en fins filaments qui pénètrent dans la vacuole, en traversant la portion du cytoplasma qui entoure la vacuole, car dans ce stade, la vacuole semble être délimitée par une espèce de paroi. Ces fins filaments sont un peu gonflés à leurs extrémités, c'est le commencement de la désagrégation du cytoplasma.

Il nous est arrivé de remarquer que ces expansions filamenteuses renferment parfois de petits globules, qui brunissent sous l'action de l'acide osmique, et qui par conséquent, doivent être de nature graisseuse. Ces expansions filamenteuses, qui prennent naissance

aux dépens du cytoplasma périvacuolaire pénètrent dans la vacuole, grâce il nous semble, à un phénomène d'endosmose. En arrivant au contact du suc vacuolaire, elles se gonflent en se transformant en petites vésicules, renfermant toujours une faible quantité de liquide dans lequel se trouvent en suspension des globules de nature graisseuse. Ces petites vésicules sont enveloppées par une mince paroi qui semble être l'expression d'une tension superficielle du cytoplasma au contact du contenu vacuolaire; elles sont de plus, suspendues dans la cavité vacuolaire par de très fins pédicules, formés par une condensation cytoplasmique. Dans cette phase de la plasmolyse, les pédicules vésiculaires sont doués d'une remarquable élasticité, car en effet, ils sont animés au sein de la vacuole d'un mouvement oscillatoire dont l'amplitude est en relation avec la marche de l'exosmose dont la vacuole est le siège.

On observe parfois, que les oscillations augmentent d'intensité et d'amplitude, tandis que quelques instants plus tard on observe un ralentissement de ce mouvement. Ce phénomène est surtout visible dans les cellules soumises à l'action d'un milieu hypertonique de l'ordre de 4 %, et notamment avec les sels de cuivre d'origine organique.

La formation de ces expansions filamenteuses présente une certaine inégalité dans les diverses cellules que nous avons utilisées pour nos recherches. On les observe très nettement dans la cellule d'*Allium cepa* et d'*Elodea Canadensis*, fort peu dans la cellule épidermique de *Vitis vinifera;* elle fait défaut dans

les cellules des « *Spirogyres* »; pour ces dernières, les phases de la plasmolyse sont réduites à une extrême simplicité. L'ensemble de ces expansions filamenteuses donne à la cellule un aspect pseudo-alvéolaire. Nous reviendrons durant notre travail sur cette question qui marque le commencement de la désorganisation de la matière vivante. Pendant ce temps, on observe dans la vacuole toute une série de précipitations du contenu vacuolaire. Ces précipitations qui paraissent dues à une condensation plus ou moins énergique des composés phénoliques, présentent les caractères et les réactions des tannoïdes (1); elles se trouvent en suspension dans le suc vacuolaire. Dans certains cas, ces précipitations peuvent se ramasser en de petits amas.

Pendant ce temps, la cellule est restée vivante, car si l'on passe de l'hypertonicité à l'isotonicité, elle reprend sa vie normale. Toutefois, il faut remarquer que les éléments cellulaires qui ont été colorés par des colorants vitaux, ne sont plus capables de se décolorer, tandis que ces éléments dans le premier stade de la plasmolyse, peuvent perdre leur coloration vitale lorsqu'on leur fait subir le retour en arrière. Mais le fait que, dans le stade que nous étudions actuellement, les éléments colorés vitalement conser-

---

(1) Ils fixent la plus grande partie des colorants vitaux, et notamment le bleu de méthylène, sous l'action des sels ferriques ils noircissent, réduisent l'acide osmique; le bichromate de K. les insolubilise et les colore en jaune, en présence du réactif de Courtonne ils donnent un précipité jaune.

vent leur coloration, ne signifie pas que la cellule est morte, car elle ne prend pas l'éosine.

Si l'on continue à faire agir le milieu hypertonique on observe de nouveaux changements dans les organites cellulaires. Le courant cytoplasmique augmente d'intensité, le cytoplasma quitte presque complètement les parois cellulaires et, dans les cellules à section carrée, il tend à se rassembler au milieu de la cellule (voir pl. 4, fig. 11, 12 et 13), tandis que, dans les cellules allongées, l'ensemble du cytoplasme et de la vacuole se dispose suivant le grand axe (longitudinal) de la cellule. En même temps, l'ensemble tend à s'étrangler par places (voir pl. 4, fig. 12 et 13). Le noyau diminue beaucoup de volume et *sa paroi semble avoir perdu de son élasticité*, son contenu apparaît formé par un réseau très dense de chromatine. Les petites vacuoles qui avaient pris naissance en certains endroits autour du noyau s'agrandissent, souvent elles se touchent, et à un certain moment, la petite quantité de cytoplasma qui les sépare se résorbe, une vacuole plus grande prend ainsi naissance. La formation de ces vacuoles n'est pas un fait constant, car certaines cellules présentent ces formations, d'autres au contraire, ne présentent pas pendant cette phase de la plasmolyse de semblables formations. Il nous semble que la formation, ainsi que la disparition de ces vacuoles doit être en étroite liaison avec le phénomène de déshydratation et réhydratation du noyau. En outre, ces formations sont des phénomènes liés à la vie qui trouvent justement leur expression dans cette simple manière de représentation.

Si à ce moment, on déplasmolyse en plaçant les cellules dans un milieu isotonique (saccharose à 7,4 %), on voit que toutes ces petites vacuoles qui avaient pris naissance durant la plasmolyse disparaissent par résorption avec une extrême rapidité dans la masse cytoplasmique.

Sous l'influence du milieu plasmolysant, la vacuole continue à se déshydrater, et l'on voit que le protoplaste semble être délimité dans l'espace cellulaire par une sorte de paroi fortement condensée. *Cette paroi est, il nous semble, l'expression d'un abaissement de la tension superficielle des constituants cytoplasmiques, qui dans cette phase liquide, gagnent la surface libre, toutefois, dans cette phase, cette accumulation ne présente pas une stabilité susceptible par sa présence de jouer un rôle défini.*

En même temps, l'on distingue les trabécules avec une netteté remarquable, surtout lorsqu'on les met en évidence par le bleu de méthylène, ou mieux encore, par le violet de gentiane. La partie du cytoplasma qui, durant le phénomène était restée collée contre les parois cellulaires s'est amincie considérablement, et même par place, elle semble avoir totalement disparu (car, par tous les moyens d'investigation que nous avons employés, il nous a été impossible de la mettre en évidence). Par contre, on remarque qu'entre le cytoplasma ainsi contracté et les parois cellulaires, ont pris naissance deux sortes de trabécules (voir pl. 7, fig. 21), les premiers sont très minces, et d'une finesse telle que souvent il nous a été impossible de les observer. Pourtant, leur présence est constante

dans les cellules plasmolysées *qui ont été l'objet de nos recherches, sauf pour la cellule des Spirogyres*

Certains de ces fins filaments renferment parfois des globules graisseux qui brunissent sous l'action de l'acide osmique. Ils ne renferment jamais ni mitochondries ni chondriocontes; un autre caractère de ces fins filaments est *de se dichotomiser fortement au voisinage de la paroi cellulaire.*

A côté de ces filaments ténus, nous avons pu observer dans les cellules plasmolysées une autre sorte de trabécules appelés plasmodesmes (*Kohl*) plus épais que les précédents, renfermant du chondriome et qui en outre ne se dichotomisent jamais au voisinage de la paroi cellulaire.

Nous avons décrit dans notre historique succinct, les controverses succitées par la présence de ces filaments dans des cellules plasmolysées. Nous allons nous efforcer d'interpréter les images que nous venons de décrire, pour cela, nous ferons appel à nos connaissances sur la nature colloïdale des parois cellulaires, nature qui est précisément mise en évidence par la plasmolyse. On sait que les parois cellulaires sont des colloïdes à l'état de gel, et que ces parois sont loin de présenter une surface continue, mais bien une surface (discontinue) percée de place en place par des interstices (voir p. 7, fig. 21).

C'est grâce à cette discontinuité que le phénomène de la nutrition minérale, nous semble-t-il, peut trouver une interprétation. La plasmolyse nous montre, en effet, qu'entre les cellules il existe une étroite liaison assurée par les deux sortes de trabécules dont nous

avons parlé plus haut. Les fins filaments ne sont jamais en liaison avec les ponctuations de la paroi cellulaire, leurs points de contact avec la paroi se trouvent situés sur la partie épaisse de la membrane. Par contre, les *plasmodesmes* aboutissent aux ponctuations, ils sont en liaison d'une part, avec ces interstices cellulaires, et d'autre part, avec les plasmodesmes des cellules voisines (voir pl. 7, fig. 21).

Les fins filaments possèdent une grande fragilité, leur durée est très éphémère; car dans les solutions hypertoniques fortes, comprises entre 5 % et 3 % de sels de (SO_4 Cu_2 5 H^2 0), ils se forment très vite et disparaissent brusquement. Dans les solutions moyennes, leur apparition et leur évolution sont très lentes; elles nous ont permis de saisir leur point d'attache sur la membrane, et d'observer leur dichotomisation qui doit jouer un rôle physiologique autre que celui des plasmodesmes. Car ces fins filaments établissent toujours une sorte de continuité pour ainsi dire, entre la masse cellulaire ainsi contractée sous l'impulsion du milieu plasmolysant, et les parties plus épaisses de la membrane. En outre, ces fins tractus sont un indice que les parois cellulaires sont en quelque sorte, en étroite liaison avec le contenu cellulaire. Nous pouvons soutenir cette hypothèse en nous appuyant sur les faits suivants : la marche du phénomène de la plasmolyse, ainsi que son intensité, et la répercussion du milieu hypertonique sur la cellule sont fonction, en effet, de l'apparition de ces filaments, de leur évolution et de leur durée. On observe en effet, un inégal partage de la plasmolyse,

entre les phénomènes qui séparent justement l'apparition de ces filaments, et ceux qui précèdent leur disparition. En effet, l'apparition de ces filaments et tous les phénomènes qu'on observe jusqu'à leur formation, se déroulent avec une certaine lenteur; une fois que ces filaments sont formés, leur présence rend plus manifeste l'influence du milieu plasmolysant; au fur et à mesure qu'ils disparaissent, les phases deviennent brusques et discontinues; cela tient précisément, il nous semble, à leur degré d'évolution.

En ce qui concerne les gros tractus ou plasmodesmes (voir pl. 7, fig. 21), nous avons pu nous rendre compte, en examinant leurs points d'insertion situés toujours sur la portion des parois minces correspondant aux interstices, qu'ils sont souvent en liaison avec les plasmodesmes des cellules voisines et qu'ils renferment du chondriome. Ils sont rattachés à la masse cytoplasmique d'une manière très forte; la présence de tous ces caractères nous indique que ces formations sont douées d'une vitalité plus grande que les fins filaments.

Avant de continuer notre exposé sur les changements dont la cellule est le siège, sous le milieu hypertonique, nous allons résumer succinctement, d'une part l'étroite liaison qui existe entre la membrane cellulaire et le cytoplasma sous-jacent, et d'autre part, toutes les hypothèses qui ont été émises sur l'origine et la nature des plasmodesmes, car la présence de ces derniers et l'hypothèse de la communication intracellulaire a suscité un nombre considérable de recherches.

Pour la première fois, PRINGSHEIM a vu les plasmodesmes. Il en donne l'interprétation suivante : durant le phénomène de la plasmolyse, la couche la plus externe du plasma se retire de la membrane cellulaire. Mais la séparation ne se fait pas comme entre deux membranes à surfaces de contact lisses; mais comme si l'une était une substance visqueuse se détachant d'une membrane à laquelle elle aurait adhéré jusqu'alors.

KOHL n'admet pas l'hypothèse de PRINGSHEIM, d'après lui toutes les fois qu'on plasmolyse une cellule, on fait apparaître des formations réticulaires qui maintiennent la communication entre les cytoplasmes des cellules voisines — cela prouverait qu'il y a des communications cytoplasmiques intercellulaires — c'est aussi l'opinion de PFEFFER et de son élève TOWSEND.

CHODAT et BOURBIER n'admettent pas l'opinion de KOHL, PFEFFER et TOWSEND sur la continuité intercytoplasmique durant la plasmolyse. Ils pensent que les plasmodesmes sont des formations dues à la viscosité du périplasma qui, en vertu de sa viscosité, conserverait des adhérences avec la membrane cellulosique.

STRASBURGER admet les opinions de CHODAT et BOURBIER sur l'origine et la nature des plasmodesmes; mais il constate que dans les cellules plasmolysées, il existe à côté de ces filaments, d'autres tractus plus épais, qui représentent bien des communications cytoplasmiques ou *plasmodesmes.*

Guillermond admet les hypothèses de Strasburger. Nous admettons les conclusions de Chodat et Bourbier, avec certaines réserves, et entièrement celles de Strasburger et de Guillermond.

En premier lieu, le réactif de Millon nous indique l'existence dans la membrane cellulaire d'une substance très voisine chimiquement du cytoplasma. D'ailleurs, on peut obtenir « *in vitro* » la même réaction avec les glucosides. Cependant, il nous semble que cette réaction chimique à quelque approximation près, montre que les parois cellulaires ont une composition chimique, qui par leurs manifestations sont en quelque sorte de même nature que celle du cytoplasma.

D'autre part, Wiesner a montré que durant le phénomène de la plasmolyse, la membrane cellulaire conserve une portion appréciable d'albuminoïdes cytoplasmiques. La présence de ces corps doit intervenir, en effet, dans le phénomène car nous avons pu observer, qu'au fur et à mesure que la plasmolyse fait sentir son influence sur la cellule, la portion du « périplasme » qui était restée collée contre les parois cellulaires, s'amincit de plus en plus. A partir d'un certain moment, on ne peut plus la mettre en évidence par le violet de gentiane (celui-ci paraît en être son colorant spécifique).

Wiesner. — Ueber der Nachweiss der Eiweisskorper in den pflanzenzellen. *Berichte der deutsch. Bot. Gessel. Bd. VI,* seite 187, 1888.

— Bd. VI, seite 53, 1888. Die Elementarstructur und das Wachstum der lebenden Substanz. *Wien,* 1892.

Dans le même ordre d'idées, si l'on admet que le rapport qui peut exister entre la membrane cellulaire et l'ectoplasme est celui d'une surface sans aspérité et d'un colloïde sans viscosité, ne mouillant pas les parois, le cytoplasme, durant le phénomène, ne gardera aucune adhérence avec la membrane. S'il en est ainsi, pendant la plasmolyse, il perdra par déshydratation son eau de constitution et s'arrondira dans l'espace cellulaire. Mais au contraire, si l'on admet « *a priori* » que le complexe colloïdal cytoplasmique, et tout particulièrement le périplasma, possède une tendance à la viscosité, nous assisterons alors, durant la plasmolyse, à une résistance de cette force d'adhésion qui sera fonction directe du degré de la viscosité périplasmique. Alors des trabécules prendront naissance, mais il nous semble que cette dernière interprétation est loin de dévoiler leur origine et leur rôle.

Notre étude sur la plasmolyse de la cellule des *Spirogyra*, nous a montré qu'à partir d'un certain moment le chromatophore cesse de toucher par ses parties marginales les parois cellulaires (pl. 3, fig. 9), et qu'à partir de cet instant des fins filaments font leur apparition.

Nous avons pu constater que ces fins filaments, en arrivant près des parois libres, se dichotomisent. Ce phénomène peut être observé en utilisant des milieux plasmolysants à faible concentration. Avec les solutions fortes, le chromatophore et le plasma qui le baigne se détachent des parois libres. Ce phénomène est tellement brusque que les fins filaments n'ont pas

le temps matériel de se former ou, pour mieux dire, ils se déchirent avant d'être entièrement constitués.

Avec des solutions faibles, on les voit parfaitement assurer la liaison entre le chromatophore et la portion de cytoplasma qui l'entoure, et le peu de cytoplasma resté collé durant le phénomène contre les parois libres. Étant donné ce mode de formation des fins filaments, il nous paraît inadmissible que ce tractus représente des liaisons cellulaires, car comme nous venons de le voir, ces filaments existent dans un ruban de « Spirogyre » aussi bien le long des parois libres qu'en face des parois communes à deux cellules. Ces tractus durant toute cette phase de la plasmolyse assurent certainement la liaison entre le milieu affecté par la solution hypertonique (c'est-à-dire le contenu cellulaire) et les parois. Ceci nous prouve que le cytoplasma de la cellule, en dehors de son rôle biologique interne, nourrit en même temps les parois cellulaires. Ces dernières ne sont donc pas, comme on a souvent tendance à le croire, des membranes inertes : elles vivent. Tandis que dans les cellules de végétaux autres que les « Spirogyres », les tractus observés relient le contenu cellulaire affecté par le milieu et la partie de la membrane correspondant aux ponctuations.

Chez les « *Spirogyres* » il nous a été impossible d'observer des formations semblables à celles que nous avons décrit précédemment, probablement à cause de la faible quantité de cytoplasma que ces cellules renferment. La plasmolyse chez les Spirogyres ne se manifeste d'ailleurs pas de la même façon que

chez les *Phanérogames*, qui ont été l'objet de notre étude. Il se forme, durant le phénomène, des *plasmodesmes* reliant le peu de cytoplasma pariétal qui entoure le chromatophore à celui qui reste adhérent aux parois cellulaires libres. Ce cytoplasma pariétal entoure le volumineux organe qu'est le chromatophore. Tout d'abord, une ou plusieurs portions de ce dernier quittent les parois en se ratatinant, puis la masse du chromatophore perd complètement sa symétrie, il commence à présenter un dépliement suivi d'un enroulement, dans un des quatre coins de la cellule, ou bien contre l'une des deux parois de contact, cependant le ruban demeure continu. Ce phénomène est dû, nous semble-t-il, à une déshydratation du chromatophore, cette déshydratation détermine une diminution de volume qui se traduit par ces décollements suivis de l'enroulement. Lorsqu'on utilise les solutions fortes comprises entre 5 % et 3 % et particulièrement les solutions de sels de cuivre d'origine organique, le phénomène se manifeste plus brutalement, il détermine le morcellement du ruban. Dans ce cas, celui-ci ne s'enroule plus comme lorsqu'on emploie les solutions faibles, simultanément on observe que les rubans présentent avec une netteté parfaite un aspect fibrillaire. On constate en outre, que le pyrénoïde a diminué beaucoup, lui aussi, de volume; cependant on ne voit aucun désordre dans la disposition des corpuscules qui se trouvent dans le chromatophore. Tous les changements qu'on observe ne peuvent pas avoir une autre origine que les troubles osmotiques déterminés par une forte déshydratation.

On a pu constater également, que dans une même file, toutes les cellules ne se plasmolysent pas avec la même intensité; alors que certaines cellules subissent sous l'influence du milieu, les modifications décrites plus haut, d'autres au contraire, ne donnent aucun signe d'altération (modifications ou changements). Nous reviendrons au cours de cet exposé, sur les changements qu'on observe dans la cellule des « Spirogyres » lorsque la mort est survenue, ou plus exactement, ce que l'on constate lorsque la coloration par l'éosine peut se manifester, car jusqu'à présent, la cellule est restée vivante malgré tous les troubles dont elle a été le siège. Mais, si arrivée à ce stade, on essaie de ramener la cellule à son état normal en la plaçant dans un milieu isotonique, on constate qu'il est impossible de la ramener à son état initial, dans cette état de plasmolyse il n'y a pas de retour possible en arrière.

De toutes ces observations relatives à la plasmolyse de la cellule des « *Spirogyres* » ressort nettement l'idée d'une étroite liaison existant entre le chromatophore et le milieu plasmolysant par l'intermédiaire de ces fins filaments.

Dans les cellules plasmolysées d'*Elodea Canadensis*, de *Vitis vinifera*, et tout particulièrement dans celles d'*Allium cepa*, nous avons pu observer avec précision l'aspect des gros filaments *plasmodesmes* qui, comme nous l'avons dit, renferment parfois des mitochondries et ne se dichotomisent jamais.

Sur le vivant, nous avons pu les observer nettement en les colorant avec le violet de gentiane, le rôle qu'ils

doivent remplir est, croyons-nous, celui d'assurer, au moins durant une partie du phénomène, la liaison entre les cellules. Ces *plasmodesmes* sont doués d'une grande réceptivité, vis-à-vis du milieu hypertonique. Comme l'a montré dernièrement GUILLERMOND, et comme nous l'avons observé nous-même, ils prennent leur point d'appui sur les ponctuations cellulaires, forte présomption en faveur de l'opinion qu'ils assurent durant la majeure partie de la plasmolyse les communications intercellulaires.

⁂

CONCLUSIONS

De cet exposé sur la formation de ces deux sortes de filaments ressortent nettement les deux notions suivantes :

a) Dans les cellules en voie de plasmolyse, on observe à partir d'un certain moment la formation, aux dépens du périplasme, de deux sortes de filaments.

Les premiers très fins, ne renferment jamais de chondriome, mais des globules graisseux. Ils se dichotomisent en arrivant près des parois cellulaires. Il est vraisemblable d'admettre qu'ils assurent la continuité entre le cytoplasme en voie de plasmolyse et les parois cellulaires. Nous pensons en outre que ces filaments doivent jouer un grand rôle dans la nutrition de la membrane cellulaire;

b) Les seconds, plus épais, ne se déchotomisent jamais et renferment parfois du chondriome, semblent bien être des *plasmodesmes* des auteurs; ils assurent

pendant une partie de la plasmolyse les communications intercytoplasmiques.

⁂

Revenons à notre objet principal; si l'on prolonge le contact de la cellule avec le milieu hypertonique, on observe de nouveaux changements. D'abord, les filaments fins disparaissent, cette disparition se fait de deux façons différentes :

1° Leur point d'appui sur la membrane cellulaire se brise et dans ce cas, le tout se résorbe dans la paroi périplasmique, qui a pris naissance durant le phénomène;

2° Ou bien ils se transforment en granulations ressemblant à de petites vacuoles placées en file indienne. Cette dernière forme apparaît surtout avec les faibles concentrations, dans les cas de plasmolyse très lente. Simultanément, les *plasmodesmes* se détachent d'une façon remarquable, grâce à leur coloration par le violet de gentiane. Le peu de cytoplasme qui, durant le phénomène était resté collé contre les parois cellulaires, a disparu par résorption. Le cytoplasme et la vacuole contractés en se déshydratant pendant la plasmolyse dans la cavité cellulaire, semblent enveloppés dans une paroi propre formée par une condensation très marquée du cytoplasme. Dans cette zone de cytoplasma condensé ou périplasmique très réfringente, le condriome fait complètement défaut, c'est à ses dépens qu'ont pris naissance, dès le début de la plasmolyse, les fins filaments et les trabécules.

L'aspect que présentent ces pseudo-parois nous fait croire qu'il y a eu prise en masse du cytoplasma au contact d'une part, avec le milieu hypertonique qui a pénétré dans la cellule durant le phénomène, et d'autre part, avec le suc vacuolaire qui paraît avoir changé de composition chimique durant cette phase.

Avant d'interpréter la suite des changements dont la cellule est le siège, changements qui vont aboutir à la mort de la cellule, nous allons exposer les hypothèses qu'a suscité ce délicat problème de la nature et de l'individualité de cette couche limite cytoplasmique, ou pour mieux dire, de la nature et de la formation des parois périplasmiques. L'existence de ces parois, en effet, est admise par tous les chercheurs: mais leur nature et leur formation sont très discutées. Enfin, nous exposerons nos observations sur les propriétés de l'ectoplasma et les relations qui existent entre lui et le plasma sous-jacent.

Pringsheim a étudié le premier cette question. Il est arrivé à cette conclusion : pendant la plasmolyse, le protoplasma se contracte et finalement s'entoure d'une couche limite qui donne l'impression d'être une paroi.

Pfeffer, H. de Vries et Strasburger, dans leurs premières recherches, ont admis comme couche limite celle qui sépare le périplasma (poliplasma) de la membrane cellulaire et du liquide ambiant.

Chodat et Bourbier ont abordé pour la première fois avec précision le problème de l'origine et de la nature de la paroi périplasmique. Ils sont arrivés à cette conclusion : la couche cytoplasmique, dans le sens vrai de l'expression, ne peut pas être considérée

comme un organe nettement différencié, comme une unité de la cellule. Chez les Algues gélifiées sur lesquelles ils ont fait leurs recherches, la couche cytoplasmique passe insensiblement à la membrane; elle est continue avec le plasma granuleux (périplasma) auquel elle adhère plus fortement qu'à la membrane, ce qui explique son retrait durant la plasmolyse. Cette zone limite ne serait pas seulement l'expression d'une tension superficielle, mais aussi d'une sorte de coagulation au contact du milieu liquide, elle résulte d'une action physico-chimique sur le plasma.

Pfeffer, dans ses recherches sur le *Chondioderma difforma* (Myxomycètes) relatives à l'origine des parois périplasmiques, n'admet pas que ces parois soient des organes propres de la cellule. Tout protoplasma, au contact d'un milieu autre que son ambiance normale, est capable de se faire une paroi périplasmique ainsi que le fait a lieu pendant la plasmolyse. Cette paroi est le résultat d'une insolubilisation de la zone limite, mais pas dans le sens accepté par Chodat et Bourbier. La tension superficielle n'intervient pas dans la formation de ces parois.

Pfeffer ne voit pas dans ces parois un organe de la cellule, il dit ne rien savoir sur leur épaisseur, selon lui, tout protoplasma est capable de reconstituer sa membrane périplasmique, qu'il ne considère pas comme une simple expression de la tension superficielle, mais comme une formation active dans le phénomène de la plasmolyse. Et, il pourrait se faire que, soit par des actions moléculaires semblables, soit

par le contact avec un autre milieu, la substance de la zone limite soit rendue insoluble (Pfeffer. *Pflanzenphysiologie*, 2e édit., pag. 91). La nature de ces parois est, d'après lui, « *albuminoïde* ».

Seiferiz a fait des expériences sur le même matériel que Pfeffer, et il arrive aux mêmes conclusions que ce dernier.

Correns, admet qu'on ne peut pas séparer, ni chimiquement ni morphologiquement, la formation et la nature de la membrane; Klebs, Nêmec, admettent les hypothèses de Pfeffer.

H. de Vries, Vent, Vantieghem, Boulet, admettent que ces parois sont des organes différenciés et permanents de la cellule.

Tswett, admet que les parois périplasmiques sont non seulement des organes permanents de la cellule, mais encore qu'elles sont différenciées, aussi bien vers l'extérieur que vers l'intérieur, il défend aussi, comme l'a fait H. de Vries, l'autonomie de cette formation.

Wiesner a soutenu l'hypothèse que la membrane périplasmique est une unité de la cellule, et qu'elle joue un rôle actif durant le phénomène de la croissance.

Strasburger, en vérifiant les recherches de Klebs sur « *Vaucharia* », désigne ces parois sous le nom de « Hautschicht » c'est-à-dire, productions spontanées et instantanées de la couche ectoplasmique. Cette couche ectoplasmique (ou périplasmique) ne joue pas un rôle aussi important que celui que lui

attribuent Tswett et H. de Vries. D'après ces auteurs, la membrane périplasmique serait alors un artifice de la transformation de l'ectoplasma — car un morceau de plasma est capable de s'arrondir en produisant une nouvelle couche limite Hautschicht une excrétion à la surface de la membrane plasmique. Strasburger n'admet pas son autonomie.

Guillermond, dans ses fructueuses recherches sur la cellule d'*Iris germanica* admet les mêmes hypothèses que Chodat, Bourbier et Pfeffer, sur l'origine des parois périplasmiques; il considère celles-ci comme des organes transitoires formés par une modification physique du cytoplasma au contact de l'eau.

La nature des parois est « albuminoïde » d'après Pfeffer, et « lipoïde », d'après Owerton, Quincke et Nathanson. Les recherches de Rhuland et de Rufz de Lavison sont peu favorables à l'opinion d'Owerton.

Nous avons étudié ce problème en faisant nos observations sur la cellule des *Spirogyres*, de *Vitis vinifera* et d'*Elodea Canadensis*, et tout particulièrement sur celle d'*Allium Cepa*, excellent matériel pour de telles investigations.

Il nous semble qu'avant d'aborder ce problème, il faut tenir compte des données acquises sur les propriétés de l'ectoplasme. On sait que l'ectoplasma ne prend pas part aux mouvements cytoplasmiques. En second lieu, il faut tenir compte des rapports qui peuvent exister entre l'ectoplasma et le plasma sous-jacent, et le rôle que peut jouer durant le phénomène une pareille liaison.

A part les recherches de Chodat et Bourbier, puis les dernières hypothèses de Pfeffer, celles de Seifriz, et, en dernier lieu, de Guillermond, tous les auteurs qui ont essayé d'éclaircir cette question ont omis de faire intervenir la viscosité relative dont est doué le plasma granuleux. Si l'on admet la théorie de l'accroissement de la membrane par apposition, on doit au préalable admettre qu'il existe des liaisons étroites entre le plasma granuleux et la membrane cellulaire. Il semble que l'on commet une erreur d'interprétation quand on dit que la membrane périplasmique est une formation autonome, dans le sens admis par Tswett et H. de Vries, car si l'on admet cette autonomie, quel sera alors le rapport qui pourra exister entre cette membrane et l'enveloppe cellulaire?

On sait que les recherches de Klebbs sur le *Vaucharia*, répétées et vérifiées par Strasburger, ont donné à celui-ci le droit d'émettre l'existence de la « Hautschicht », c'est-à-dire, à la production spontanée et instantanée d'un périplasma. Mais dans le cas présent, cette production ne peut avoir aucune autonomie dans le sens de H. de Vries et Tswett, car l'hypothèse de Strasburger repose sur le fait que la « Hautschicht » résulte d'un changement de milieu à condition que l'enveloppe cellulaire n'intervienne pas dans le processus de formation.

Les hypothèses de H. de Vries et surtout celles de Tswett reposent sur l'ancienne doctrine classique, d'après laquelle le contenu cellulaire fonctionne comme un vésicule libre dans une boîte cellulosique.

De pareilles conceptions ne sont plus admissibles. Henneguy a montré en effet que la cellule est l'unité morphologique et physiologique de la vie, la doctrine de Tswett est loin d'expliquer des phénomènes de cette envergure. Si l'on admet que l'ectoplasma possède une sensibilité plus grande que celle du plasma sous-jacent, et que cette sensibilité de la membrane ectoplasmique provoque la contraction du plasma en lui transmettant, dans la plasmolyse, la pression osmotique reçue du dehors; dans ce cas, le plasma sous-jacent sera inactif, son retrait sera tout simplement le résultat immédiat de la contraction simultanée de la membrane périplasmique.

On sait par les recherches de Chodat, que la couche périplasmique est adhérente à la membrane, et qu'il faut vaincre cette adhérence pour plasmolyser la cellule. Or, si la couche ectoplasmique était un organe distinct de la cellule, elle ne différerait du cytoplasma sous-jacent que par ses propriétés physiques et physico-chimiques. Dans ce cas, l'adhérence à la membrane ne serait pas de nature à provoquer la séparation nette de cette couche, et du plasma sous-jacent. Le phénomène de la plasmolyse nous montre dans les plus petits détails qu'il n'y a pas de limite matérielle entre le périplasma et le plasma sous-jacent.

D'autre part, la nature et les réactions des protéines montrent que ces dernières sont capables de former, lorsqu'elles sont en contact avec certains milieux, une couche distincte dans leur région marginale. C'est le cas de la « caséine », on sait en effet

que la caséine neutre, injectée par un acide faible (acide tartrique), donne des cellules (vides) semblables par leur aspect à la cellule végétale. D'autre part, on sait que lorsque les albuminoïdes se coagulent, l'état de leurs molécules est changé. Il y a contraction, mais cette dernière n'est pas nécessairement égale dans toute la profondeur de la zone limite affectée, car on sait, qu'entre l'état de fausse solution et celui de coagulation, il y a toute une série de stades intermédiaires.

De nos observations sur la nature, la formation et les manifestations des parois périplasmiques, ressort l'idée suivante : Par ses manifestations, le périplasma est une structure changeante, en équilibre avec les états variables de la cellule. Pendant la plasmolyse, en effet, les constituants cytoplasmiques abaissent leur tension superficielle et s'accumulent à la surface. Or on sait — et la théorie est fréquemment exposée depuis Owerton — que les lipoïdes gagnent toujours la surface libre de la phase liquide qui les contient. Ce phénomène est connu et expliqué en chimie physique grâce aux substances qui abaissent la tension superficielle. Par leurs réactions, les protéintes se concentrent en une couche superficielle et à un degré qui excède leur solubilité, si bien qu'elles se déposent sous une forme plus ou moins rigide.

Cette formation est capable de se redissoudre lors du retour à l'équilibre normal par déplasmolyse du contenu de la cellule.

Son épaisseur ne peut pas être une expression réelle, une paroi, ou bien une couche; étant donné

que sa formation dépend de l'intensité du phénomène qui lui donne naissance. Son indétermination, ainsi que le rôle qu'elle semble remplir durant la plasmolyse sont étroitement liés, d'une part au milieu, et d'autre part aux réactions incessantes dont la cellule est le siège.

Cette condensation superficielle ne peut pas être séparée chimiquement et morphologiquement du reste du cytoplasma, étant donné son origine.

Le sens permanent que certains auteurs ont attribué à cette formation, ne peut trouver aucune explication puisque sa naissance est liée à l'abaissement de la tension superficielle des constituants cytoplasmiques, abaisement qui est régi lui-même par un phénomène accidentel. En ce qui concerne l'hypothèse que cette formation est différenciée aussi bien vers l'intérieur que vers l'extérieur, aucun des faits que nous avons observés ne nous permet de souscrire à pareille suggestion. On a pu seulement voir nettement que *cette formation transitoire a un aspect très réfringent, ne renferme jamais de chondriome et que ses micelles ne prennent pas part au mouvement cytoplasmique.*

Si l'on continue à soumettre la cellule à l'influence du milieu plasmolysant, on observe de nouveaux changements. En premier lieu, tous les éléments cellulaires sont arrivés à leur maximum de colorabilité compatible avec l'état de vie par les colorants vitaux. La cellule est en effet restée vivante durant les phases de plasmolyse que nous venons d'étudier, la preuve en est que si l'on revient au milieu isoto-

nique (saccharose 7,6 % à 8,4 %), on observe un retour en arrière par une réhydratation des organites cellulaires, et tout particulièrement de la vacuole. Peu à peu, le contenu cellulaire semble revenir à son état normal. *Cependant la colorabilité des organites cellulaires, ne disparaît pas, ne s'atténue même pas, malgré ce changement de milieu. Nous avons constaté, en effet, qu'une cellule arrivée à ce stade de la plasmolyse, garde sa colorabilité intacte. Cette observation met nettement en évidence la nature colloïdale des organites cellulaires.*

Au contraire, si on laisse le milieu agir sous l'impulsion de l'excitation incessante dont la cellule est le siège, on observe l'apparition de nouveaux changements. Tout d'abord, on constate *la disparition des fins filaments* qui, durant les phénomènes antérieurs, assuraient la liaison entre les parois et le contenu cellulaire. L'aspect que présente le contour cellulaire (protoplaste) nous a permis de faire les remarques suivantes : Dans les cellules à section carrée, le contenu se rassemble au milieu de la cellule, cependant, il touche parfois, par ses parties marginales, les parois cellulaires (voir pl. 5, fig. 16). Dans les cellules allongées à section rectangulaire, le contenu cellulaire présente des étranglements par places, et se divise en plusieurs masses reliées par de minces portions de cytoplasma à contour parfaitement régulier, et parfaitement homogène (voir pl. 7, fig. 21). Cette division de la masse cytoplasmique amène par étranglement celle de la vacuole, de sorte que dans chaque boule cytoplasmique, on trouve un fragment de la vacuole mère.

Cette formation est reversible, c'est-à-dire, que si l'on déplasmolyse, la réhydratation de la cellule amène un refusionnement des vacuoles filles, la masse cytoplasmique reprend sa forme primitive et la vacuole réapparaît à l'intérieur.

En ce qui concerne les plasmodesmes, nous avons pu constater, durant nos recherches, que, tout particulièrement dans les cellules épidermiques du *Vitis vinifera*, de telles formations présentent une résistance plus accusée, ou pour mieux dire, que les plasmodesmes de la cellule épidermique de cette plante semblent être constitués par une condensation micellaire cytoplasmique douée d'une résistance plus grande que celles des formations semblables dans les autres cellules étudiées. En effet, chez ces dernières, la fragmentation de la vacuole mère en vacuoles filles, amène une contraction du contenu cellulaire tellement intense que *les plasmodesmes se déchirent et disparaissent.* Dans la cellule de *Vitis vinifera* au contraire, cette fragmentation vacuolaire ne provoque nullement la disparition des plasmodesmes, ceux-ci peuvent persister encore pendant quelque temps et assurer les liaisons intercellulaires.

La cellule est le siège de nouveaux changements, car on voit dans certains endroits le cytoplasma périvacuolaire s'altérer et déterminer la formation de petites boules au dépens de ce cytoplasma qui pénètrent dans la vacuole.

Ces hernies vésiculeuses, boules sarcodiques décrites par Dujardin (voir pl. 7, fig. 21), qui rappellent

jusqu'à un certain point les figures méliniques (1), ont été décrites pour la première fois dans la cellule végétale en voie d'altération par KLEMM, puis par GUILLERMOND.

Nous avons repris la question, et nous allons tenter de l'interpréter selon nos observations. Les figures myéliniques se forment aussi bien avec les solutions fortes de 4 à 2 pour 100, qu'avec les solutions moyennes de 1 pour 500 et 1 pour 10.000, et avec les solutions faibles de 1 pour 50.000 et 1 pour 1.000.000 et au delà. Mais leur netteté nous semble être fonction des solutions hypertoniques à concentration forte, par exemple de 4 pour 100, avec des durées de contact plus ou moins grandes, suivant la nature du sel, organique ou minéral; suivant l'emplacement qu'occupe la cellule dans le tissu et suivant la nature des composés que renferme la vacuole.

(1) Elles ont été découvertes par VIRCHOW (*F. Virchow's Archiv*, tome VI, p. 571, 1854) et ont été considérées comme des cellules artificielles; (M. TRAUBE, *Centralbl. für med. Wissensch*, n° 26, 1866 et L. RHUMBLER, Das protoplasma als physikalisches System; *Wiesbaden Bergman*, 1914). Ce sont des membranes cylindriques amorphes, des précipitations chimiques qui séparent deux liquides réagissant l'un sur l'autre. Elles s'accroissent sous l'action de la *surpression* provoquée par l'osmose dans le liquide inclus, ou sous l'action d'une dépression qui règne à l'intérieur des formations myéliniques (O. LEHMAN, *C. R. Acad. des Sci.*, tome 158, p. 389, 1914). D'après ce dernier (O. LEHMAN, *Wied. Amn.*, tome 56, p. 771, 1855. — *Biolog. Centrabl.*, tome 28, p. 515, 1908. — *Sitzb. d. Heidelb. Akad.*, n° 13, 1913), les formes myéliniques sont des cristaux liquides bourgeonnants, dont les molécules aplaties en lamelles cherchent toujours à s'orienter parallèlement aux surfaces limites; ou bien ce sont des sortes de filaments cylindriques qui peuvent se comporter comme s'ils étaient formés de molécules réparties en couches concentriques autour de l'axe de la figure.

Néanmoins, leur formation dépend de la marche de la plasmolyse et tout particulièrement de la marche de la déshydratation de la vacuole et de l'altération du cytoplasme périvacuolaire.

A partir d'un certain moment on voit apparaître des excroissances qui pénètrent dans la vacuole. Elles se forment aux dépens du cytoplasma périvacuolaire et des substances qui y sont incluses. *La formation de ces excroissances n'est que l'expression d'une réaction des composés de nature graisseuse (lécithine, cholestérine) qui probablement entrent dans la composition du suc cytoplasmique intermicellaire.* Ces substances graisseuses au contact d'un milieu fortement hypotonique, tel que le suc vacuolaire, arrivé à cette phase de la plasmolyse, se décomposent grâce au fait que la presque totalité des composés phénoliques en suspension dans le suc vacuolaire ont précipité durant le phénomène. On voit ainsi que cette modification du milieu vacuolaire permet l'apparition de telles formations.

Ces composés entraînent dans leur migration, non seulement une partie, d'ailleurs minime, de cytoplasma, mais aussi une partie de chondriome; nous avons constaté la présence de mitochondries dans les minces parois qui entourent ces formations.

Le point de départ de ces excroissances est le suivant : *Première hypothèse :* Une paroi vacuolaire ayant à sa surface une faible couche de ces substances graisseuses; si la paroi se rétrécit en se déshydratant, la couche ne peut pas se rétrécir, elle se courbe du côté de la vacuole, et voilà un schéma de l'origine

de ces figures. Ou bien, *seconde hypothèse :* A partir d'un certain moment, qui correspond, il nous semble, à la précipitation complète des composés renfermés dans la vacuole, on observe que le cytoplasma périvacuolaire commence à se décomposer en de fines expansions à allure filamenteuse, qui pénètrent dans la vacuole. L'extrémité de ces filaments ne tarde pas à se gonfler, elle forme une petite boule reliée à la masse cytoplasmique par un minuscule pédicelle. Ce pédicelle doit jouer un rôle important pendant la plasmolyse, si l'on appuie, en effet, sur la lamelle et si l'on arrive à briser un de ces minuscules pédicelles, la boule qui se détache et tombe dans la cavité vacuolaire ne s'accroît plus. Dans ce stade, ces petites boules sont immobiles.

Dans une phase suivante, ces petites boules s'agrandissent et prennent un aspect vésiculeux. Simultanément elles sont animées d'un incessant mouvement oscillatoire, qui tient, il nous semble, à l'exosmose de la vacuole. Les bords de ces petites boules se déforment continuellement; ou bien, par une dilatation qui apparaît à l'extrémité distale, la forme filamenteuse se transforme en vésicules. Cette transformation est due probablement à des phénomènes d'endosmose du filament, car il s'hydrate aux dépens du liquide vacuolaire. C'est d'ailleurs cette hydratation qui détermine le mouvement oscillatoire de ces vésicules.

Le filament initial, de même que les parois des vésicules, semble formé par plusieurs couches juxtaposées: primitivement la paroi emboîtante était en

contact avec la paroi emboîtée, mais par la suite, elle s'en est séparée. Il arrive parfois, et nous l'avons constaté nettement, que la paroi emboîtante soit entourée à son tour par une troisième enveloppe, celle-ci qui a pris ainsi naissance et qui possède une paroi, à son tour, formait l'une des parois de la boule qui se trouve emboîtée à ce moment même. Ces parois successives sont plastiques et se courbent dans leurs mouvements oscillatoires, mais cette interprétation de la déformation des contours ne nous semble pas correcte. Il nous semble plutôt que ces déformations sont dues à une diminution de la pression interne des petits vésicules, car elles se réhydratent aux dépens de la déshydratation vacuolaire, c'est cette hydratation qui amène la transformation des fins filaments en boules et puis en vésicules souvent emboîtées. Les parois vésiculaires semblent être douées d'une viscosité assez grande. Elles possèdent une biréfringence assez grande, mais au fur et à mesure que leur formation avance, la biréfringence disparaît et finalement les parois sont à peine perceptibles. *Si l'on déplasmolyse, ces formations semblent se rétrécir sans disparaître; toutefois, une cellule arrivée à cette phase de la plasmolyse est incapable de reprendre sa vie normale.*

L'ensemble de ces formations donne à la cellule un aspect alvéolaire. D'après Guillermond, cet aspect alvéolaire de la cellule plasmolysée semble être général; il a été signalé par Schwartz, puis par Matruchot et Molliard. Ces derniers auteurs considèrent de semblables formations comme le résultat

d'un phénomène d'exosmose qui consiste dans le fait suivant : Durant la plasmolyse, l'eau de constitution du cytoplasma se sépare de ce dernier et s'y dépose sous forme de petites vacuoles dont le contenu diffuserait peu à peu dans la grande vacuole.

En résumé : Ces formations sont des formes liquides à expression filamenteuse courbées d'une façon continue, à structure définie et à propriété optique biréfringente, correspondant à un état d'équilibre stable et pouvant persister : car, si durant le phénomène, on immobilise par un changement propre aux réactions vacuolaires la marche du phénomène, on observe une parfaite stabilité de leur évolution.

Elles doivent, il nous semble, jouer un grand rôle dans la désagrégation de la matière vivante; leur apparition ainsi que leur évolution achève la déshydratation de la vacuole, car leur disparition coïncide exactement avec la mort de la cellule.

En outre la vacuole, d'une part, en se déshydratant diminue encore de volume ; le cytoplasma périvacuolaire, d'autre part, commence à se désorganiser. Cette désorganisation amène, il nous semble, une coagulation de ce cytoplasma, de sorte que la vacuole paraît être délimitée par une zone qui peut jouer durant le phénomène, un certain rôle physiologique. Sa formation est donnée avec une certaine clarté par les solutions fortes des sels de cuivre de 4 et 3 %, et tout particulièrement avec les solutions hypertoniques des sels de cuivre d'origine organique. Son évolution est dévoilée par le rouge neutre qu'on additionne à la solution hypertonique, et qui colore

assez franchement la vacuole pour faire ressortir cet artefact. Généralement la formation de la zone périvacuolaire est un phénomène assez lent. Son évolution est liée à la précipitation complète des composés phénoliques inclus dans le suc vacuolaire. C'est justement ce milieu vacuolaire qui crée sa formation. Il nous semble que tout changement dans ce milieu vacuolaire doit avoir sa répercussion sur le cytoplasme. C'est une modification liée à l'unité morphologique et physiologique de la vie, c'est une expression de la vie elle-même. Mais cette zone ne peut pas avoir, étant donné son origine, une autonomie dans le sens de H. DE VRIES. Elle ne peut pas être non plus une couche ou des couches dans le sens admis par H. DE VRIES et TSWETT; tout ce que la plasmolyse nous révèle, c'est qu'elle est l'une des pseudo-formations les plus résistantes de la cellule. La plasmolyse nous montre que cette zone se forme aux dépens du cytoplasma qui, par une condensation de ses micelles, resserre ses mailles au contact du milieu vacuolaire franchement hypotonique. Mais la cause de cette formation réside, nous semble-t-il, dans l'exosmose, qui est l'origine de toutes les perturbations dont la cellule est le siège durant toutes ces phases de la plasmolyse.

L'épaisseur de la zone périvacuolaire est liée à l'intensité du phénomène lui-même; le mot « *épaisseur* » ne peut exprimer la valeur réelle d'une formation qui est étroitement liée à un pseudo-équilibre. Le nom de « TONOPLASTE » donné par DE VRIES à cette formation et le sens qu'il attribue à ce mot

(voir Historique), [car nous avons vu que cet auteur considère cette formation comme une unité, comme un organe propre, autonome de la cellule], nous semble très exagéré. Quand on emploie les solutions fortes des sels de cuivre, on constate que le chondriome souffre peu des perturbations dont la cellule est le siège. Toutefois, on observe que les chondriosomes sont un peu amincis, et que leur chromicité a beaucoup diminué. Nous n'avons pas pu saisir leurs mouvements dans ce stade de la plasmolyse.

Le noyau a beaucoup diminué de volume, ses parois ont perdu de leur élasticité et ne conservent plus le même contour régulier qu'elles avaient au début de la plasmolyse. Les nucléoles semblent se résorber tout en demeurant encore visibles; ils apparaissent comme de petits points extrêmement cristallins.

Dès le début de ces importantes modifications dans la cellule, nous avons pu observer, avec les solutions fortes (de 4 à 2 %) des sels de cuivre, que la déshydratation du cytoplasma et tout particulièrement du cytoplasme périnucléaire est énergique. Cette déshydratation détermine « l'apparition de petites vacuoles entre les mailles cytoplasmiques ». Ces vacuoles se présentent de deux façons différentes; les unes sont très petites, elles ont un aspect filamenteux; les autres sont plus grandes, elles ont un contour régulier et un aspect très hyalin. Le cytoplasme qui les entoure devient plus réfringent. Il nous a été possible de le voir avec netteté dans les cellules d'*Allium Cepa* et d'*Elodea Canadensis*, grâce au rouge neutre qui teinte ces dernières en rose très pâle.

Ces vacuoles apparaissent après tous les sels de cuivre que nous avons employés et dans toute la masse cytoplasmique; cependant leur formation semble être plus abondante dans le cytoplasme périvacuolaire. Elles sont probablement dues à une déshydratation du cytoplasme qui élimine son eau de constitution entre ses mailles en un point donné.

La formation de ces vacuoles nous semble liée d'une part, à la déshydratation du noyau et, d'autre part, aux changements incessants dont tout l'ensemble cellulaire est le siège. Elles n'apparaissent jamais avec des solutions hypertoniques faibles et moyennes de 1 pour 500 et au delà.

Avant de continuer d'exposer les modifications dont la cellule est encore le siège jusqu'à sa mort, nous allons faire un résumé succinct des opinions qu'ont suscité l'origine, la nature et la formation des vacuoles dans l'ensemble cellulaire.

On sait, grâce aux dernières recherches de P.-A. Dangeard, reprises par Guillermond, que la cellule renferme, à tous les stades de son métabolisme, des espaces plus ou moins grands, plus ou moins visibles, à contours et à apparence tout à fait dissemblables. Ces espaces, appelés vacuoles, renferment le suc cellulaire, lequel tient en dissolution des composés dont la nature est plus ou moins connue (1) mais qui sont une élaboration du cytoplasma.

---

(1) Protéines de réserve, alcaloïdes, glucosides, composés phénoliques, pigments anthocyaniques, acides divers, diastases, etc...

Ces composés possèdent, d'une part, la propriété d'être imprégnés par les colorants vitaux usités en cytologie avec une remarquable électivité. D'autre part, par leurs propriétés chimiques ils semblent jouer des rôles physiologiques importants.

C'est sur cette remarquable électivité des composés inclus dans le suc vacuolaire vis-à-vis des colorants vitaux, que reposent les recherches fécondes en résultats de P.-A. Dangeard. Ce savant a pu mettre ainsi en évidence la formation, l'évolution et les caractères de la vacuole dans toutes les cellules et durant toute l'évolution cellulaire.

P.-A. Dangeard a nommé la substance ou les groupes des substances que la vacuole renferme « *métachromatine* ». Cette substance n'est pas un terme purement hypothétique; on sait, par les recherches de cet auteur et par celles de Guillermond, qu'elle est constante dans l'appareil vacuolaire des *Algues* et des *Champignons*. Elle existe dans toutes les vacuoles, elle est par conséquent, caractéristique du système vacuolaire.

D'après P.-A. Dangeard, la vacuole ne se forme pas « *de novo* », elle se perpétue par l'intermédiaire de la métachromatine qu'elle renferme. D'après lui, cette substance existe dans la cellule sous forme de grains (dans les cellules végétales, en état de vie ralentie sous forme de grains d'aleurone) [1]. Ce

(1) Les grains d'aleurone sont la concrétisation, sous forme solide, des substances en solution colloïdale dans le suc vacuolaire des cellules à l'état de vie active, lorsque celles-ci passent à l'état de vie ralentie par déshydratation générale de leur protoplasme et particulièrement de leurs vacuoles.

n'est pas la vacuole (qui d'ailleurs représente une formation de la cellule), mais la métachromatine qui assure, pendant tout le métabolisme cellulaire, la permanence de la vacuole.

L'origine de la vacuole a suscité un grand nombre de recherches et ce problème présente encore des obscurités. La théorie restée longtemps classique n'admettait pas la permanence de la vacuole dans la cellule, au même titre que le noyau et les chloroplastes. On admettait que la vacuole était un produit secondaire qui naissait « *de novo* » dans la cellule. Jusqu'aux dernières recherches de P.-A. Dangeard et de Guillermond, on pensait que la vacuole naissait de la façon suivante : « Étant donné que, dans les cellules embryonnaires (cellules méristématiques) la présence des vacuoles n'était pas encore visible, on croyait que ces formations n'étaient pas permanentes, on admettait que ce n'était que plus tard, par des processus qui échappaient aux moyens techniques d'investigation que la vacuole prenait naissance. » Nægeli, Sachs, Van Mohl, Haustein, Pfeffer, admettaient l'interprétation suivante : « Pendant un des stades du métabolisme cellulaire, le cytoplasma, grâce à des phénomènes de saturation, laisse exsuder de l'eau entre ses mailles. Cette eau s'accumule dans un endroit quelconque, formant un rassemblement liquide apparent qui, dans une phase ultérieure de l'évolution cellulaire, va s'agrandir et constituer une « vacuole. » La vacuole est donc une formation accidentelle à laquelle les auteurs cités ne peuvent, de ce fait, accorder aucun rôle physiologique.

Nægeli, Hofmeister et Sachs ont admis que la vacuole se forme aux dépens du cytoplasma; c'est encore une preuve du peu de connaissance que ces auteurs possédaient sur cette formation indispensable dans l'évolution cellulaire. Durant les recherches postérieures, on a considéré la vacuole comme un élément « *vivant ou non vivant* » de la cellule, mais qui n'intervient pas dans les phénomènes essentiels dont la cellule est le siège. Cependant, son existence et son évolution jouent un certain rôle physiologique (pression osmotique et, par conséquence, turgescence) dans le phénomène de la nutrition.

Avant de continuer l'exposé de nos recherches, nous allons faire un court résumé des idées et des doctrines concernant l'origine de la vacuole et faire le partage des divers auteurs entre la théorie de la « *permanence* » et celle de la formation « *de novo* » de la vacuole.

H. de Vries, en partant de cette idée que la « vacuole » doit jouer un rôle physiologique auquel les travaux classiques ne faisaient guère allusion, a ouvert la série des recherches en vue d'élucider en premier lieu, son origine, et en second lieu, son rôle dans la cellule. Dans un mémoire publié en 1885, en se servant de la plasmolyse comme moyen d'investigation, il a mis en évidence la vacuole, dans les cellules jeunes (racine de Zea Mays en germination) et dans les cellules adultes (*Spirogyres*). Tout en admettant la *permanence* de la vacuole, il admet également le terme naître « *de novo* ». Ses conclusions peuvent se résumer de la façon suivante : Apparition

en premier lieu d'un corpuscule solide qui, par hydratation aux dépens de l'eau intermicellaire cytoplasmique, peut se transformer en vacuole. Cette hydratation est due à sa paroi, « *le Tonoplaste* », organe vivant individualisé dans la cellule, et il n'est jamais formé « *de novo* », il a par conséquent, une existence permanente dans la cellule. De Vries admet la permanence de la vacuole par son « *Tonoplaste* », au même titre que le noyau et les plastes. Le *Tonoplaste* a le pouvoir de sécréter le suc vacuolaire, comme les plastes sécrètent l'amidon. Les expériences qu'il a faites sur les cellules des *Spirogyres* constituent l'argumentation la plus convaincante, car il a vu que dans le terme final de la plasmolyse, le noyau et le cytoplasme se colorer en rose par l'éosine; tandis que le *Tonoplaste* empêche, par sa présence, la coloration de la vacuole. En ce qui concerne le rôle que peut jouer le « *Tonoplaste* », de Vries croit qu'il maintient le suc cellulaire à une concentration telle que les fonctions physiologiques soient possibles.

Went, l'élève de H. de Vries, a défendu la théorie de son maître et, dans deux mémoires (1) très intéressants parus en 1888 et 1889, il a décrit clairement la nature et l'origine de la vacuole. Il a fait ses expériences sur les racines d'*Allium Cepa*, *Zea Mays*, *Vicia Faba*, etc., sur le sommet de la tige d'*Asparagus*

(1) Went. — Die Vermehrung der normalen vacuolen durch Thilung. *Jahrb. f. Wiss. Bot.*, 1888. — Die vacuolen in den Fortpflanzungszellen der Algen. *Bot. Zeit.*, 1889.

officinalis, dans les tentacules de *Dorosera*, etc..., suivant une technique conseillée par STRASBURGER. Il est arrivé aux conclusions suivantes : Toutes les cellules vivantes contiennent des vacuoles dont WENT admet « *la permanence* », elles se multiplient par division et peuvent se fusionner. La vacuole ne se forme jamais aux dépens du cytoplasma, mais la cause de son apparition « *de novo* » dans la cellule est un gonflement « *d'embouchures* » préexistantes, embouchures qui avaient échappé jusqu'alors aux investigations des chercheurs anciens. WENT combattait ainsi la doctrine classique soutenue par NÆGELI, HOFMEISTER et SACHS.

PFEFFER et ses élèves ont combattu la doctrine de l'école hollandaise, et dans leurs recherches ils admettent les hypothèses de VAN MOHL, NÆGELI, HOFMEISTER. PFEFFER a fait ses recherches sur des cellules dépourvues de membrane, tel que le plasmode de *Chondrioderma difforma* (Myxomycetes). Pour lui, les vacuoles sont des productions qui naissent dans le cytoplasma à un emplacement arbitraire. En ce qui concerne le terme « *autonomie vacuolaire* », il a pu, grâce à la plasmolyse, faire naître artificiellement, dans un cytoplasma dépourvu de vacuoles, un grand nombre de ces dernières. Donc il admet, en s'appuyant sur ses observations, la « *néoformation* » de la vacuole. En ce qui concerne l'hypothèse de H. DE VRIES, ayant trait à la division de la vacuole, PFEFFER l'interprète comme une simple nécessité, d'ailleurs cette division n'implique en rien que de nouvelles vacuoles ne puissent naître directement.

Pour ce qui est de l'autonomie « *du Tonoplaste* » admise par H. de Vries, Pfeffer la rejette, étant donné qu'elle est une formation qui prend naissance au contact du cytoplasma avec l'eau. Tswett (1899) émet une hypothèse qui semble osciller entre celles de H. de Vries et de Pfeffer.

Nêmec, dans un mémoire publié en 1896, a défendu la « *néoformation* » de la vacuole, en apportant de nouvelles preuves en accord avec la théorie de Pfeffer. Il a fait des recherches, non pas sur des cellules dépourvues d'une membrane cellulaire, comme Pfeffer (*Chondrioderma difforma*), mais sur des cellules possédant une enveloppe (*Vicia faba*). Par un refroidissement brusque, il provoque dans la racine de cette plante la formation dans le plasma des nucléoles extra-nucléaires, qui peuvent à leur tour se dissoudre et être remplacés par une vacuole. En s'appuyant sur cette observation, il admet la formation « *de novo* » de la vacuole.

Strasburger, qui a été le plus grand défenseur de la théorie du plasma alvéolaire (1), a cherché,

---

(1) Cette théorie a été soutenue par Butschli, qui considère le cytoplasme comme constitué par des cavités plus ou moins fermées dont les parois sont faites d'une substance relativement compacte et dense; elles contiennent dans leur intérieur une substance plus molle et plus fluide (hyaloplasme). Cette théorie repose en grande partie sur des observations vitales. Elle est artificielle, comme l'ont montré : Verworn, Degen, Faure-Frémiet, et comme l'ont confirmé les observations de Guillermond. Elle est due à diverses actions physiques sur le cytoplasme du milieu artificiel dans lequel les cellules sont observées. Kunstler les considère comme dues à un gonflement d'éléments constitutifs

dans son interprétation sur la formation des vacuoles, à englober cette formation dans sa théorie. Pour lui, les vacuoles ne sont pas de néoformation, car elles existent à l'état de lacunes du plasma alvéolaire. Leur origine se confond pour ainsi dire avec ces espaces lacunaires-alvéolaires. D'après lui, la vacuole fait partie de la structure normale du protoplasma ; il suffit seulement que chaque lacune de plasma alvéolaire s'arrondisse, se délimite nettement et s'accroisse en une vacuole.

D'après ces points de vue, STRASBURGER exprime qu'il y a une permanence vacuolaire dans la cellule.

VAN TIEGHEM, en 1885, a admis les hypothèses de H. DE VRIES et de l'*école hollandaise*, sur la permanence de la vacuole. Il compare cette formation à celle des leucites et donne par rapprochement, le nom « d'hydroleucite » à la vacuole; il admet en outre, que la vacuole ne peut pas se former autrement que par division, il considère ses parois comme des organes permanents et différenciés. CHODAT et SCHARP sont au contraire partisans de la « *néoformation* » de la vacuole.

---

du cytoplasme, qu'il désigne sous le nom de « *sphérules* » et qui, pour FAURE-FRÉMIET, correspondent aux mitochondries actuelles. D'après ce dernier, la majeure partie des structures alvéolaires serait due à l'altération des mitochondries et à leur transformation en grosses vésicules, sous l'influence des milieux hypotoniques. A cette opinion se range également GUILLERMOND, avec certaines réserves, sous la même action (milieu hypotonique) le cytoplasme peut former de petites vacuoles ou des figures myéliniques qui contribuent également à déterminer cet aspect alvéolaire (GUILLERMOND. — *Rev. Gén. de Bot.*, Paris, 1919.)

Les recherches de P.-A. Dangeard, sur les cellules des *bourgeons des Gymnospermes* et celles du méristème des Phanérogames ont contribué à élargir les vues sur l'origine, l'évolution et la nature des vacuoles. Grâce aux colorants vitaux et au pouvoir électif de la substance colloïdale qui se trouve à l'état plus ou moins fluide dans la vacuole; grâce au fait qu'elle se colore d'une manière intense et uniforme par ces colorants, il a pu suivre l'évolution de la vacuole. P.-A. Dangeard admet que la vacuole est un appareil morphologiquement et génétiquement autonome, qui évolue suivant sa propre loi. Il est présent dans les cellules à tous les stades du métabolisme cellulaire, mais sous des formes et des aspects différents qui sont en étroite liaison avec l'état plus ou moins concentré de la « *métachromatine* »; celle-ci joue un rôle d'osmotine et d'électivine. Pendant la phase d'hydratation, cette substance absorbe une grande quantité d'eau et se transforme en une petite vacuole à consistance semi-fluide. Les différentes petites vacuoles nées de la sorte peuvent entre elles fusionner et donner naissance à la vacuole de la cellule adulte. La métachromatine peut être précipitée par les colorants vitaux pendant la phase de l'hydratation intense (jeunes vacuoles), et les corpuscules ainsi formés, fortement colorés, sont animés de mouvements browniens. Ces corpuscules ont des propriétés identiques

---

Chodat. — *Principes de Botanique.*
Scharp. — *Introduction to cytology.* 1921.
P.-A. Dangeard. — *Le Botaniste.* Paris, 1925.

à celles des corpuscules « *métachromatiques* » que l'on trouve dans la vacuole des Algues et des Champignons. La substance vacuolaire « *métachromatine* » ne disparaît pas durant l'évolution cellulaire, elle se transmet d'une cellule à une autre pendant la division. Toute vacuole provient donc d'une vacuole préexistante, de même que tout noyau provient d'un autre noyau. P.-A. Dangeard a montré également, que dans les organes à vie ralentie (graines), le système vacuolaire est représenté par les grains « *d'aleurone* ». Ces grains sont connus depuis plus d'un demi-siècle, mais leur véritable nature et leur signification étaient encore douteuses. *En s'appuyant sur ces recherches, il admet la permanence de la vacuole, qui se perpétue par l'intermédiaire de la « métachromatine ».*

P. Dangeard admet, lui aussi, la permanence de la vacuole par l'intermédiaire de la « *métachromatine* » qu'elle renferme.

A. Guillermond (*La Cellule*, vol. XXXVI) admet partiellement les hypothèses de P.-A. Dangeard et P. Dangeard, mais conteste certaines interprétations de ces auteurs et se refuse à croire à la permanence de la vacuole. Tout d'abord, il n'admet pas qu'il y ait dans la vacuole une seule substance, mais un groupe de substances qui possèdent le caractère commun, d'avoir le même coefficient de colorabilité par les colorants vitaux, c'est la *métachromatine* des Algues et des Champignons. Ces substances qui ont été retrouvées dans la vacuole des végétaux supérieurs,

semblent, d'après GUILLERMOND, être des protéines accompagnées de composés phénoliques. Leurs caractères hysto-chimiques sont différents de ceux de la « *métachromatine* » des Champignons et des Algues. D'autre part, étant donné que ces produits sont une élaboration cytoplasmique qui constitue des produits de nutrition, ils doivent *a fortiori* avoir un commencement et une fin, et par conséquent la permanence de la vacuole devient invraisemblable.

Pour élucider ce problème sur l'origine de la vacuole, GUILLERMOND ouvre tout une série de recherches qui ont porté tout d'abord sur les « *Saprolégniacées* »; mais ce matériel ne lui a pas permis d'obtenir des résultats concluants. Il trouve sur des moisissures telles que: le *Pénicillium glaucum*, *Botritis Cinerea*, *Oidium Lactis*, et sur des levures telles que : *Saccharomyces Ludwigii*, *S. Pastorianus*, etc., un matériel plus propice.

La vacuole débute dans l'extrémité d'un filament de *Penicillium glaucum*, en voie de croissance, sous forme de corpuscules d'aspect semi-fluide qui fixent énergiquement le rouge neutre, en outre, ces corpuscules se trouvent dans un endroit quelconque du cytoplasme. Puis, ces corpuscules se transforment en petites vacuoles, dans lesquelles on retrouve ces minuscules corpuscules qui se caractérisent par le fait que, d'une part, ils fixent énergiquement les colorants vitaux, et d'autre part, ils sont animés des mouvements browniens. Cette variation d'aspect tient, d'après GUILLERMOND, au degré de la concentration de la « *métachromatine* ». Au fur et à mesure qu'on descend

vers la base du filament, on voit les petites vacuoles grossir, se fusionner et finalement former la grande vacuole qui occupe toute la longueur du filament. On constate que le contenu de la vacuole peut se colorer par le rouge neutre d'une manière intense, ou rester achromatique. Mais on trouve toujours dans cette vacuole, de petits corpuscules animés de mouvements browniens. A partir d'un certain moment, leur nombre augmente, ils se gonflent progressivement, cessent leur mouvement, se fusionnent et toute la masse s'accole sur le bord de la vacuole en forme de croissant. A côté de ces grandes vacuoles, GUILLERMOND a observé souvent de minuscules vacuoles qui renferment un petit corpuscule métachromatique, et paraissent se fusionner ensuite avec les grandes vacuoles. Il conclut: *Qu'il est difficile d'expliquer la présence de ces petites vacuoles, si l'on admet pas qu'elles résultent d'une néoformation.*

Les ramifications latérales du filament ont pour origine un filament très jeune, ou bien un filament plus évolué. Généralement, dans les ramifications ainsi formées, on observe un cytoplasme très dense au sein duquel prend naissance une petite vacuole renfermant un petit corpuscule se colorant fortement par le rouge neutre. Souvent les vacuoles sont entraînées mécaniquement par le cytoplasme dans les ramifications. Mais, dans le cas où une ramification prend naissance aux dépens d'un filament déjà âgé, pourvu de grandes vacuoles, on observe dans le rameau de petites vacuoles, sous forme de corpuscules semi-fluides qui n'ont aucune relation avec les grandes

vacuoles liquides du filament. GUILLERMOND en conclut que les petites vacuoles qui apparaissent dans les jeunes rameaux, de même que celles que l'on observe dans les extrémités en voie de croissance du filament, se forment « *de novo* » dans le cytoplasma.

Dans la germination des conïdies, il observe une seule vacuole avec un ou plusieurs corpuscules métachromatiques. La conïdie en germant émet un tube germinatif, d'abord dépourvu de vacuoles. A un moment donné, lorsque le tube acquiert un certain développement, on voit apparaître un assez grand nombre de vacuoles vraisemblablement sans relations avec la grande vacuole primitive de la conïdie, qui subsiste dans la région qu'elle occupait avant la production du tube germinatif.

GUILLERMOND fait les mêmes observations sur d'autres moisissures, telles que l'*Oïdium Lactis* et le *Botritis Cinerea*. L'étude de GUILLERMOND sur la formation des vacuoles dans le bourgeon des levures telles que : *Saccharomycodes Ludwigi*, *S. Ellipsoïdus*, *S. Mycoderma Cerevisiae*, a confirmé son hypothèse. Bien que l'expérience seule puisse donner une réponse certaine à la question, GUILLERMOND arrive, en s'appuyant sur ses recherches, aux conclusions suivantes : La vacuole, tout en étant entraînée parfois mécaniquement avec le cytoplasma dans les rameaux et les bourgeons, naît plus souvent encore « *de novo* ». GUILLERMOND caractérise ainsi la formation de la vacuole : Le cytoplasme sécréterait une substance colloïdale, la « *Métachromatine des Champignons* », non miscible avec lui, et qui se déposerait en son

sein sous la forme de corpuscules de consistance semi-fluides. Ces corpuscules, par leur pouvoir d'absorber de l'eau, se gonfleraient, puis se transformeraient peu à peu en vacuoles liquides.

*
**

Sous l'influence de l'action plasmolysante du milieu, on observe de nouveaux changements dans la cellule. Les solutions à faible concentration, de 1 p. 1.000 et au delà, donnent à une cellule arrivée dans cette phase un aspect alvéolaire. De ce fait, le cytoplasma périvacuolaire se décompose sous l'action du milieu en petites vésicules, qui font hernie dans la vacuole, ressemblent aux boules sarcodiques de DUJARDIN et rappellent, jusqu'à un certain point, les figures myéliniques. Cette formation apparaît avec netteté pour les concentrations moyennes des sels de cuivre comprises entre 1 p. 1.000 et 1 p. 50.000, et tout particulièrement avec les sels d'origine minérale.

C'est d'ailleurs l'aspect général où la plasmolyse de la cellule semble s'arrêter pendant un certain temps pour ces solutions. Durant notre exposé, nous allons revenir sur le changement qu'ont subi le chondriome et le noyau avec ces solutions, et nous allons aborder l'étude des changements qu'on observe pour les solutions plus faibles, de l'ordre de 1 p. 100.000 et au delà.

Pendant ce temps, la cellule est restée vivante, car elle ne prend pas l'éosine; seul l'espace compris entre

le protoplaste et les parois cellulaires est faiblement coloré en rose pâle par cette substance. Mais si l'on revient au milieu isotonique (7,3 p. 100 à 8,2 p. 100 de saccharose), on observe dans la cellule, après une durée de contact qui varie entre 10 minutes et même 2 heures, certaines tendances vers un retour en arrière. Cependant une cellule, arrivée dans cette phase de la plasmolyse, est incapable de reprendre sa vie normale.

Avec les solutions fortes de 5 p. 100 à 3 p. 100, les changements sont plus marqués et nous donnent l'image de l'instabilité incessante dont le contenu cellulaire est le siège sous l'influence du milieu extérieur. Car, même si l'on admet que certaines cellules arrivées à cette phase de la plasmolyse peuvent réaliser un certain équilibre, cet équilibre est très éphémère. La durée de cet équilibre est sous la dépendance, non seulement de la concentration du milieu hypertonique, de l'emplacement qu'occupe la cellule dans le tissu et de son stade d'évolution; mais encore de quelque chose qui n'a aucune liaison avec les parois cellulaires, lesquelles durant le phénomène ne jouent qu'un rôle effacé, mais à quelque chose qui tient au cytoplasma lui-même et qui, tout en étant sous sa dépendance, est étroitement lié non seulement à l'exosmose, dont la cellule est le siège — car elle se déshydrate — mais bien, il nous semble, à la mince couche albuminoïde qui entoure le protoplaste et qui provient d'une pseudo-insolubilisation de cette zone limite cytoplasmique. On sait que le phénomène de l'absorption peut se produire à la surface de la micelle

et qu'il a une très grande importance, puisqu'il modifie cette surface, ce qui entraîne nécessairement une variation de l'ionisation. Cette modification peut être plus ou moins grande, avec certaines substances spécifiques, dont la théorie colloïdale nous permet de prévoir l'existence. Généralement, en effet, ce qui est d'ailleurs un caractère propre des colloïdes, la pression osmotique et la stabilité d'un hydrosol sont très sensibles aux changements dans la composition chimique du liquide intermicellaire de l'hydrosol.

La cellule est vivante, elle ne prend pas l'éosine qui colore très faiblement d'une rose effacé la surface limitant les parois cellulaires et la mince couche rendue insoluble pendant le phénomène, enveloppant le protoplaste vers l'intérieur. D'autre part, on sait que la stabilité est sous la dépendance de la pression osmotique; toute cause d'abaissement de la seconde, diminue aussi la première. Or la théorie des colloïdes nous apprend que la pression osmotique est liée au nombre des micelles et à l'ionisation de ces micelles. Burton a montré que la stabilité d'un colloïde, auquel on ajoute des quantités croissantes de certaines substances, passe par un minimum au point isoélectrique. Nous avons observé durant nos recherches, que le phénomène de la plasmolyse se manifeste au commencement avec une certaine brutalité puis, au fur et à mesure que le phénomène évolue, on observe dans sa manifestation une certaine lenteur. Celle-ci est marquée par ces pseudo-équilibres qu'on remarque durant le phénomène; intercalés entre les différentes phases. Cela tient, pensons-nous, à la variation de l'ionisation

dans le liquide intermicellaire, variation due à la présence d'ions de même nature que les ions extérieurs (milieu hypertonique). On sait, en effet, que pour deux sels ayant un ion commun et dissous dans le même liquide, la présence de chacun d'eux diminue l'ionisation et la solubilité de l'autre. (On définit la solubilité des colloïdes comme celle d'un cristalloïde.)

Sous l'influence du milieu hypertonique, les plasmodesmes, derniers vestiges de la continuité intercellulaire pendant les stades antérieurs se brisent. Généralement la cassure se produit tout près de la paroi, de sorte qu'une partie du plasmodesme va faire masse commune avec le protoplaste, tandis que l'autre reste collée contre la paroi. Nous avons cherché à préciser ce que devient cette infime quantité de cytoplasme qui reste collée sur la paroi. Pour cela, nous avons utilisé des solutions à 2 p. 100 et 1 p. 100, car avec les solutions fortes de 5 p. 100 à 3 p. 100, la formation, l'évolution et la cassure du plasmodesme sont trop brusques pour qu'on puisse les analyser. Après la cassure (1), on constate qu'à l'endroit où le plasmodesme s'est brisé, là où la couche limite entre en contact avec le milieu liquide, qui limite d'une part les parois cellulaires, et d'autre part le protoplaste, différencie instantanément une couche condensée semblable à celle qui limite le protoplaste. Peu à peu

(1) La brisure est due, semble-t-il, d'une part, à la contraction du protoplaste (car le contenu cellulaire suit sa déshydratation), et, d'autre part, au maximum de rigidité acquise par le plasmodesme durant le phénomène.

cette partie du plasmodesme se résorbe dans la masse du protoplaste, pour disparaître complètement dans une phase ultérieure. Le protoplaste, dans ce stade, possède un contour apparent et bien régulier, grâce à cette couche limite ou paroi périplasmique. L'autre partie du plasmodesme, qui par la brisure s'est accolée contre la paroi cellulaire, ne conserve rien du chondriome qui se trouvait dans la masse du plasmodesme. Peu à peu, cette masse s'aplatit contre la paroi et, dans un stade ultérieur, disparaît comme si elle était résorbée par celle-ci. Durant ce temps, le chondriome ne subit aucune modification apparente, cependant il s'amincit un peu, les chondriocontes prennent une certaine rigidité, révélée par le fait qu'ils n'ondulent plus dans leurs mouvements, qui sont d'ailleurs presque inexistants. A partir d'un certain moment, on observe dans les cellules plasmolysées d'*Allium Cepa*, avec les solutions fortes de 5 p. 100, surtout dans les cellules âgées, des formations qui ont l'aspect de minuscules bourgeons filamenteux. Ces formations prennent leur origine dans le cytoplasma périvacuolaire et renferment un contenu d'aspect semi-fluide qui se colore fortement par le rouge neutre. Le mode de réaction de ces formations vis-à-vis du rouge neutre nous indique que nous sommes en présence de petites vacuoles qui résultent de la fragmentation de la grande vacuole. Si à ce moment, on déplasmolyse en revenant à l'isotonicité, toutes ces formations filamenteuses disparaissent en se réhydratant, elles retournent à leur état primitf, de sorte que ces formations sont réversibles. Nous avons pu nous rendre compte de cette

réversibilité en passant successivement de l'hypertonicité à l'isotonicité. Ces vacuoles filamenteuses offrent par leur aspect des ressemblances frappantes avec le système vacuolaire décrit dans les cellules embryonnaires des Phanérogames.

Quant au noyau, qui est l'élément le plus résistant de la cellule, ses parois perdent beaucoup de leur élasticité. Celles-ci paraissent devenues perméables aux toxiques; sous l'influence du milieu, le noyau a subi une déshydratation énergique, il apparaît fortement contracté. La contraction du noyau sous l'influence du milieu hypertonique est générale, nous avons pu l'observer dans toutes les cellules qui ont été mises en expérience, et tout particulièrement dans la cellule d'*Allium Cepa*.

Le chromatophore d'une cellule de Spirogyre, arrivée à cette phase, se comporte, dans les solutions fortes, de la même façon que le chondriome, il subit un amincissement, d'ailleurs très faible, et son contour devient irrégulier. Pendant ce temps la cellule est restée vivante, elle ne prend pas l'éosine, qui colore seulement en rose pâle l'espace situé entre les parois cellulaires et le protoplaste. Elle est perméable aux colorants vitaux (rouge neutre), qui se fixent énergiquement sur les composés en suspension dans le suc vacuolaire. Si l'on transporte une cellule arrivée à ce stade de la plasmolyse dans un milieu isotonique, elle se réhydrate et une vie normale réapparaît. Néanmoins, il nous semble que tout en admettant que les forces élastiques qui tendent à faire reprendre à la masse cellulaire la vie et le

volume primitifs, sont plus grandes que les forces de cohésion nées du rapprochement des atomes, qui ont pris naissance durant le phénomène. Cependant une cellule, arrivant à cette phase, est plus près de la mort que de la vie normale retrouvée par un changement de milieu. Car la phase qui précède celle-ci et qui amène la désorganisation complète de la cellule se manifeste avec une grande brutalité. Une cellule parvenue à cette phase semble avoir atteint le maximum de déshydratation compatible avec la vie. Cet état est caractérisé par l'aspect rigide, par la viscosité accrue qui immobilise le protoplasme. Au point de vue chimique, on ne peut pas définir cet état, étant donné qu'on ne connaît pas suffisamment la structure du cytoplasme, il faut bien s'en tenir à des considérations purement structurales.

Arrivée à cette phase de la plasmolyse, la cellule présente un certain équilibre osmotique, d'ailleurs très instable, le retour en arrière par l'isotonicité nous le montre amplement. D'autre part, en nous appuyant sur la manifestation elle-même, il nous semble que, pour chaque concentration du liquide intermicellaire, il y a une certaine réaction d'équilibre, la plasmolyse nous révèle que cette réaction d'équilibre est possible dans les deux sens. Ce phénomène peut s'expliquer en outre par l'intervention des énergies dites de surface, sur lesquelles la notion de la structure colloïdale cellulaire doit avoir une grande influence. C'est cette dernière, nous semble-t-il, qui régit, par sa présence, les changements auxquels la plasmolyse nous fait assister. C'est elle, ou plutôt la nature des

composés plus ou moins instables que la vacuole renferme, qui règle non seulement le déclenchement du phénomène, mais toutes les phases auxquelles on assiste et qui aboutissent à des formes dans lesquelles la grandeur du phénomène est manifestée par les perturbations qu'on observe. Les deux facteurs d'équilibre sont : 1° d'une part, la quantité de sel dissous dans la solution hypertonique, et qui pourra être fixée par l'unité de masse (ce qu'on pourrait appeler la concentration du sel dans les micelles cellulaires) ; 2° d'autre part, la quantité de sel resté libre dans la solution par unité de volume, ou concentration du solvant, et qui règle en quelque sorte toute la suite des instabilités aboutissant à la mort de la cellule.

L'équilibre ne peut s'établir que s'il y a un certain rapport entre ces deux concentrations. Ce rapport dépend à la fois de l'adsorbant et de l'adsorbé, car nous savons que les manifestations du phénomène lui-même sont sous la dépendance de l'évolution cellulaire, du stade de son métabolisme. Si, une fois cet équilibre établi, on le rompt par une nouvelle addition de l'adsorbé, le système se transforme et les concentrations changent jusqu'à ce qu'un nouvel équilibre soit atteint. C'est ce qui produit les phases de la plasmolyse, ainsi que nous l'avons exposé, le phénomène se présente avec une certaine lenteur, marquée par des équilibres successifs qui vérifient bien nos hypothèses.

D'autre part, les phases plasmolytiques qui précèdent la mort de la cellule, nous indiquent que l'absorption est proportionnellement beaucoup plus forte

pour des traces que pour des grandes quantités des sels de cuivre dissoutes. Elle est spécifique et, d'une façon générale, elle est d'autant plus forte que la surface de contact est plus grande. Cette hypothèse est largement vérifiée durant la plasmolyse, car nous avons exposé, au cours de notre travail, que le phénomène présente, pendant les diverses phases qu'il embrasse, des périodes marquées par une certaine brutalité dans ses manifestations. Ce fait paraît en étroite liaison avec la surface de contact entre la cellule et le milieu ambiant, car, au fur et à mesure que le phénomène gagne dans sa manifestation, il devient plus lent et plus discontinu.

En même temps, la concentration du milieu hypertonique, qui correspond au maximum de déshydratation cellulaire, n'est probablement pas la même. Si cette concentration augmente progressivement, les différents organites de la cellule se saturent les uns après les autres, et on assiste à ce fait que la netteté du phénomène, qu'on a observé au début de la plasmolyse, perd de sa clarté.

Cependant, on peut émettre l'hypothèse qu'il y a chaque fois un équilibre entre les concentrations du corps adsorbé, d'une part, dans le granule cytoplasmique, et, d'autre part, dans le liquide intermicellaire. Ceci entraîne une autre hypothèse : vu les manifestations de la plasmolyse, le liquide intermicellaire ne peut être de l'eau pure (au sens rigoureux du mot) que si le granule ne renferme aucune partie soluble. On peut vérifier notre hypothèse par la suite des changements qu'on observe dans la cellule et par la

netteté de la coloration vitale, qui est si peu marquée au début de la plasmolyse. Ceci nous fait supposer en effet, que si le granule renferme parfois quelques molécules d'un corps soluble, une partie de ces molécules passera dans le liquide intermicellaire. Donc, si par suite d'une cause quelconque, il existe dans le granule cytoplasmique un composé qui peut prendre, durant le phénomène, une forme soluble, ce composé ou les groupes de ces composés doivent *a fortiori* se rencontrer dans le liquide intermicellaire, en équilibre avec ceux contenus dans les groupes. C'est précisément le cas de l'anthocyane qui, à la fin de la plasmolyse, grâce à la désorganisation des pseudo-parois vacuolaires, se répand dans toute la cellule, et même, comme a vu GUILLERMOND, dépasse le cadre étroit de la cellule, sort dans le milieu ambiant et le colore en rose.

Par le peu de vie que la cellule manifeste, par son aspect, sa rigidité et l'immobilité de ses organites, elle représente le maximum de déshydratation de la vie, qui est justement l'expression d'un de ces équilibres. Car la cellule n'est pas morte, elle possède une colorabilité assez nette par les colorants vitaux; en outre, elle ne prend pas l'éosine, qui ne colore d'ailleurs que d'un rose effacé l'espace qui sépare le protoplaste des parois cellulaires (voir pl. 7, fig. 21). Et si l'on change de milieu en passant de l'hypertonicité à l'isotonicité (saccharose 7,2 à 8,4 p. 100), on assiste à une réhydratation plus brusque que n'a été le phénomène lui-même. Cette réhydratation est très visible sur la vacuole, qui, en se réhydratant, se gonfle et se réfu-

sionne aux petites vacuoles qui avaient pris naissance durant le phénomène. Le cytoplasme se réhydrate également, et peu à peu, il reprend un aspect plus ou moins normal. Les parois périvacuolaires et périplasmiques, qui avaient pris naissance durant le phénomène, se dispersent dans la masse cytoplasmique, ce qui nous fait admettre que les forces de cohésion nées du rapprochement des micelles sont beaucoup plus petites et plus instables que les formes élastiques, liées en outre à la vie, et qui tendent à faire reprendre à la masse cellulaire son volume et son aspect primitifs.

Ce retour en arrière nous montre une anomalie cellulaire qui mérite d'être relevée. On sait que le chondriome est représenté par des mitochondries élaboratrices et par des mitochondries végétatives. Or, la plasmolyse nous montre un inégal degré de manifestation en ce qui concerne les réactions de ces deux parties bien distinctes du chondriome. Car, on voit que les premières, représentées par les chondriocontes, restent minces et rigides, malgré le retour en arrière et malgré la vie cellulaire nouvelle; les secondes, représentées par les mitochondries granuleuses et par les courts bâtonnets, présentent le même aspect qu'au début de la plasmolyse. Donc, malgré les changements incessants et apparents que tous les organites ont dû subir durant le phénomène sous l'influence du milieu, ces dernières ne présentent pas le moindre trouble. Cette constatation va se présenter avec une clarté parfaite en utilisant les solutions faibles de 1 pour 100.000 et au delà.

Au bout d'un certain temps, la cellule meurt, et

on voit qu'à partir de ce moment l'éosine peut colorer l'ensemble cellulaire, notamment le noyau et le cytoplasme. Cependant, dans cette première phase qui précède la mort, on voit que le protoplaste est nettement délimité par la mince paroi de nature albuminoïde qui a pris naissance durant le phénomène; de même la vacuole, ou les vacuoles sont délimitées par la mince paroi périvacuolaire. Dans une seconde phase, on observe une brusque réhydratation du contenu cellulaire. Cette réhydratation détermine un gonflement de tous les organites cellulaires; en outre, elle nous montre qu'un phénomène de nature endosmotique a succédé au phénomène exosmotique qui marquait le début de la plasmolyse. Le cytoplasme en se réhydratant devient hyalin, mais on observe dans sa masse, de place en place, de petites granulations, qui sont dues à un commencement de coagulation qui va avoir lieu dans une phase postérieure. Au contact du milieu fortement hydraté, à composition chimique complètement changée semble-t-il, le chondriome commence son altération en suivant les mêmes transformations qu'au début de la plasmolyse avec les solutions faibles. On voit les chondriocontes se gonfler et tendre vers une forme plus ou moins ovoïde ou ellipsoïdale, souvent à contour irrégulier. Cette transformation passe par les phases suivantes : certains endroits du chondrioconte présentent des gonflements; d'autres, au contraire, présentent des étranglements. A partir d'un certain moment, ces divers gonflements se séparent par la partie effilée, de sorte qu'un seul chondrioconte peut

donner naissance à plusieurs vésicules qui, grâce à des phénomènes purement endosmotiques, vont grandir et prendre dans un terme ultérieur la forme d'une grande vésicule, impossible au premier abord, si l'on ne connaissait pas son origine, de la déterminer. En outre, ces vésicules ont une tendance à se rassembler en masses vésiculeuses, à contours irréguliers et à contenu parfaitement clair et homogène. Les courts bâtonnets ne présentent pas une évolution aussi compliquée; ils se transforment simplement en vésicules plus ou moins ellipsoïdales. Les mitochondries granuleuses, même dans cette phase qui précède la mort, ne présentent pas de grandes transformations; on observe un faible gonflement et, comme les boules graisseuses, elles sont animées d'une mouvement brownien. On a observé ce dernier au commencement de la plasmolyse dans la vacuole (mouvement brownien des grains métachromatiques). On sait, d'après les recherches de W. Seifriz sur la plasmolyse des *Myxomycètes*, que ce mouvement brownien des granules cytoplasmiques est un des symptômes de l'altération du cytoplasme. Dans nos recherches, nous n'avons pas pu observer le moindre mouvement brownien des granules cytoplasmiques; nous avons vu nettement l'aspect granuleux que présente le cytoplasme dans ce stade, et constaté sa complète immobilité. Cette immobilité est due vraisemblablement à la rigidité et au peu de fluidité que présente cette partie de la cellule. Mais on a observé que le mouvement brownien n'affecte que seulement les mitochondries granuleuses et les boules graisseuses. Nous avons

identifié ces dernières grâce au brunissement qu'elles présentent sous l'action de l'acide osmique. Pendant la réhydratation du contenu cellulaire, le noyau se gonfle et présente un aspect très fluide, par le fait de l'endosmose, qui modifie en outre sa structure et son aspect. De nouveau la cellule semble réaliser un certain équilibre, mais tout retour en arrière est devenu impossible, car elle est morte. Et si l'on change de milieu en passant à l'isotonicité (8,4 p. 100 de saccharose pour les cellules d'*Allium Cepa*), celle-ci ne peut pas réagir pour déclancher un retour en arrière. Ce qui nous montre amplement que les forces de cohésion nées du rapprochement des micelles dues au commencement de la coagulation cellulaire, sont beaucoup plus grandes que les forces élastiques vitales, qui tendent à faire reprendre à la masse cellulaire son aspect primitif, elles s'opposent à tout retour en arrière. Au fur et à mesure que la phase de la plasmolyse se rapproche de la mort, la concentration de la solution isotonique employée pour déclancher le retour en arrière devient plus forte, sans cependant dépasser une limite étroitement liée à la vie, et qui est le terme maximum de l'isotonicité (8,4 p. 100 de saccharose). Sous l'impulsion du milieu ambiant, on observe, à partir d'un certain moment, que la mince paroi périplasmique de nature albuminoïde, formée à la limite du protoplaste pendant la plasmolyse, commence sa désorganisation. Généralement, cette désorganisation de la -pseudo paroi de nature albuminoïde prend son origine dans la paroi proche du noyau. Cela nous fait supposer

que le phénomène auquel on va assister, est en quelque sorte régi par les changements qui se produisent dans la masse nucléaire. Au contact brusque entre le contenu cellulaire et le milieu, on assiste à une prise en masse par place du cytoplasme désorganisé et du chondriome. On observe nettement la formation des granules cytoplasmiques et l'on constate que cette forte réhydratation détermine un gonflement des mitochondries qui affectent une forme vésiculeuse plus ou moins régulière. Cette phase nous montre le rôle effacé que jouent durant la plasmolyse les parois cellulaires. Nous savons que l'évolution de la plasmolyse est liée, non pas à une action des parois cellulaires, mais à quelque chose qui fait corps avec le cytoplasme lui-même et qui se rétracte avec lui dans l'espace cellulaire, et régit, comme nous venons de le voir, ce terme ultime qui marque la désorganisation complète de la cellule. Dans cette phase qui précède la mort de la cellule, le noyau présente un aspect faiblement alvéolaire. La vacuole est encore nettement délimitée par la fausse-paroi qui a pris naissance pendant la plasmolyse. A partir d'un certain moment, qui tient à la nature des composés qu'elle renferme et surtout au stade du métabolisme cellulaire (car nous avons pu constater qu'il y a une étroite liaison entre cet isolement de la vacuole décrit par H. de Vries et Tswett, et vérifié par Guillermond, et l'état de l'évolution cellulaire) elle se désorganise. Cette désorganisation est due, en premier lieu, à l'endosmose, en second lieu, à une modification de sa structure qui la rend perméable et met en

liberté son contenu. A partir de ce moment, on assiste à une énergique déshydratation du noyau, qui apparaît fortement coagulé. (Acétate de cuivre 5 p. 100.)

⁂

Le terme final de la plasmolyse des cellules des *Spirogyres* est le suivant : le chromatophore possède nettement une structure fibrillaire, dans laquelle on distingue le pyrenoïde fortement contracté. Le ruban chlorophylien, en quittant les parois cellulaires, perd sa symétrie vis-à-vis des deux axes de la cellule, il présente une tendance à l'enroulement qui s'effectue près des parois transversales (1). A un certain moment, le chromatophore, devenu rigide, se brise. Les cassures se font généralement dans une région très voisine du pyrénoïde; en se déchirant, il forme instantanément une couche limite à l'endroit de sa déchirure. Simultanément, les trabécules, qui assurent la liaison entre le cytoplasme périnucléaire et le cytoplasme pariétal disparaissent. Le cytoplasme périnucléaire et le cytoplasme pariétal, qui baignent le chromatophore, sont devenus fortement granuleux; de ce fait, les observations manquent souvent de clarté. Le chondriome, représenté par les mitochondries granuleuses et les courts bâtonnets, semble peu affecté de la déshydratation qui atteint l'ensemble cellulaire,

(1) Solutions de sulfate de cuivre 5 p. 100, avec une durée de contact 12 heures. Spirogyres orbicularis.

déshydratation qui est due à des phénomènes purement exosmotiques. Cette partie du chondriome semble avoir une tendance à se rassembler dans le cytoplasme périnucléaire. Le noyau apparaît fortement contracté. La cellule est encore vivante, elle ne prend pas l'éosine, et si l'on change de milieu en passant à l'isotonicité (8,2 p. 100 de saccharose, *sp. orbicularis*) on observe, après une durée de contact plus ou moins longue, que la cellule se réhydrate. Cette réhydratation est bien visible, grâce au gonflement et au déroulement que présente le chromatophore, qui ne retrouve pas la symétrie qu'il présentait tout au début de la plasmolyse. Le chromatophore des *Spirogyres* est donc l'organite le plus sensible de la cellule aux troubles osmotiques. A partir d'un certain moment, qui est étroitement lié aux échanges incessants de nature osmotique dont la cellule est le siège, l'équilibre est rompu et la mort survient. La cellule est perméable à l'éosine. Cependant, on n'observe pas, comme pour les cellules d'*Allium Cepa*, *Elodea Canadensis* et *Vitis vinifera*, un phénomène brusque, qui aboutit à la désorganisation complète de la cellule. Dans ce cas, le processus est assez lent et présente deux phases : la première est de nature endosmotique, elle détermine une forte réhydratation, qui amène un bouleversement complet. Le chromatophore déchire ses bords en mettant en liberté le pyrénoïde et les boules graisseuses. Ces dernières, en contact avec le milieu cellulaire, sont animées de mouvements browniens. Le noyau est fortement gonflé, a aspect plus ou moins alvéolaire, en outre, la partie du chondriome

représentée par les courts bâtonnets se gonfle et devient vésiculeuse. Toutefois, nous n'avons pas pu observer le mouvement brownien des mitochondries granuleuses qu'on voyait bien dans les autres cellules mises en expérience, à cette phase de la plasmolyse. Le contenu cellulaire présente une tendance à ce coaguler. Ajoutons que l'amylosphère ne présente aucun changement, tout ce qu'on a pu observer, c'est que les grains d'amidon qui l'entourent au début de la plasmolyse ont une tendance à se disperser dans cette masse à aspect coagulé. Dans une seconde phase, on observe une faible déshydratation de la cellule, due à un phénomène purement exosmotique. Cette déshydratation désorganise complètement le contenu cellulaire dans lequel on peut encore distinguer des débris du chromatophore enchevêtrés, des grains d'amidon, des boules graisseuses, des vésicules à contour irrégulier qui ont pris naissance par l'altération des mitochondries. Le noyau fortement gonflé présente un aspect alvéolaire. En outre, on observe que durant le phénomène le volume de la cellule a augmenté, cette augmentation détermine un gonflement, qui se manifeste par la courbure que présentent ses parois; celles-ci perdent, par cette manifestation, leur élasticité. Les angles cellulaires deviennent beaucoup plus grands, parfois même disparaissent complètement; cela est dû à une variation du pouvoir osmotique de la cellule.

*
**

Les changements que subissent les cellules et qui aboutissent à leur mort dans les solutions extrêmement faibles, telles que celles de l'ordre de 1 p. 100.000 et au delà, sont tout à fait caractéristiques (voir pl. 6, fig. 19 et 20). Ils diffèrent de ceux qu'on observe avec les solutions fortes qui ont été l'objet principal de nos recherches. Avec ces solutions faibles, ce n'est plus un milieu hypertonique qui agit, puisqu'elles ne contiennent que des quantités infimes de sels, mais bien un milieu hypotonique (1) qui détermine des changements liés à ce dernier milieu. Cela tient, sans doute, à la faible quantité de sel que ces solutions

(1) Dans leurs recherches sur les écailles axillaires d'*Elodea Canadensis*, et notamment sur les altérations que subissent ces dernières en milieu hypotonique, Lewisky et Rudolph ont décrit l'ensemble du phénomène, observé par eux. Ils admettent que, sous l'action du milieu, le cytoplasme se décompose et prend une structure alvéolaire. Ils ont décrit de même la formation au sein du cytoplasma, de corpuscules qui ressemblent par leur aspect aux *physodes* de Crato. Mais ils n'ont pas décrit le comportement du chondriome dans l'ensemble du phénomène. Pour eux, le chondriome cesse d'être distinct, ils ont omis de décrire quel était le processus de sa résorbtion. C'est probablement ce milieu hypotonique qui n'a pas permis aux W. Schimper et A. Meyer de voir le chondriome; car dans leurs recherches, ces auteurs ne se servaient pas du milieu isotonique et, par conséquent, ils n'ont pu voir une structure réelle du chondriome, ils n'ont vu que l'altération de ce dernier et la forme vésiculeuse due à cette altération. Guillermond, dans son étude vitale des cellules épidermiques des sépales et des pétales de *Tulipa suaveolens*, et dans les cellules épidermiques des bractées d'*Iris germanica*, a décrit d'une manière complète les transformations que subit la cellule en milieu hypotonique.

renferment. Avec ces solutions, le phénomène est quelque peu violent, tout particulièrement avec les solutions de sels d'origine minérale (Sulfate, Nitrate, Carbonate, etc.). Les pertubations se manifestent assez rapidement, le contact qui en amène le déclanchement est de courte durée. C'est d'ailleurs un phénomène général, nous l'avons observé dans toutes les cellules mises en expérience et très nettement dans les cellules épidermiques de *Vitis vinifera* et d'*Allium cepa*, avec cette particularité : Le déclanchement du phénomène semble lié non seulement à l'emplacement qu'occupe la cellule dans le tissu, mais à l'épaisseur de la membrane cellulaire. Le phénomène lui-même est régi par toute une série d'intermittences qui paraissent être sous la dépendance des troubles osmotiques. L'altération commence par les mêmes apparences que pour les solutions fortes, c'est-à-dire, par une augmentation du courant cytoplasmique. Cette augmentation dans l'intensité du mouvement n'est pas la même sur toute la surface cytoplasmique, nous avons vu nettement que, dans certains trabécules qui relient le cytoplasme périnucléaire au cytoplasme pariétal, le courant était plus marqué que dans le cytoplasme pariétal (voir pl. 6, fig. 19 et 20). En outre, cette augmentation du courant cytoplasmique paraît étroitement liée aux différents changements que présente la vacuole sous l'action du milieu et qui sont de nature osmotique. Après une durée de contact très courte, on observe que l'altération se localise sur le cytoplasme, lequel par sa réaction semble donner signe d'une irritation, mais malgré

cette apparente altération, nous avons pu observer qu'elle reste parfaitement homogène durant une grande partie du phénomène. C'est un des caractères qui séparent nettement par leur action, les solutions hypotoniques des solutions hypertoniques de l'ordre de 5 p. 100 à 2 p. 100. Cela tient aux circonstances dans lesquelles le phénomène se produit, car tout l'ensemble de cette manifestation est régi par une action de surface à laquelle on doit ajouter la continuelle endosmose dont la vacuole est le siège. Cette hypothèse est basée sur le gonflement que présente la cellule. Nous avons pu observer, en effet, que certaines cellules présentent un gonflement dû aux changements, tandis que d'autres, tout en présentant des signes manifestes d'altération, n'ont pas cette allure. Dans une même assise de cellules, la réaction s'effectue à des degrés différents.

Puis le processus devient semblable à celui que provoquent les solutions fortes, à partir d'un certain moment, le cytoplasme périvacuolaire tout proche du cytoplasme périnucléaire, se décompose. Il donne naissance aux petites boules vésiculeuses qui pénètrent dans la vacuole et qui ont été observées avec les solutions fortes. Boules sarcodiques de Dujardin et qui rappellent jusqu'à un certain degré les *figures myéliniques* (voir pl. 6, fig. 19 et 20). Cependant, on a pu observer que de semblables formations prenaient naissance également aux dépens du cytoplasme de certains trabécules qui relient le cytoplasme pariétal au cytoplasme périnucléaire. Toutefois, leur formation n'est pas si abondante qu'avec les solutions

fortes. Leur mode de formation est le suivant : le cytoplasme périvacuolaire, sous l'excitation créée par le milieu, se décompose, pénètre dans la vacuole sous forme de fins filaments. En cas de réhydratation, le point extrême du filament se gonfle, et dans un stade ultérieur, il prend la forme vésiculeuse. Ces formations n'apparaissent pas avec une clarté, ni en aussi grand nombre qu'avec les solutions fortes. Nous n'avons pas pu observer pour ces formations dues aux solutions faibles, le mouvement oscillatoire des vésicules qu'on pouvait clairement distinguer avec les solutions fortes. Leur ensemble, bien que peu marqué, donne à certains endroits de la cellule un aspect alvéolaire mais d'apparence homogène.

En ce qui concerne le chondriome, son altération est très brusque, et on a été frappé dès le commencement par sa fragilité. Cependant, au point de vue réaction et évolution d'altération des chondriosomes, nous nous sommes clairement rendu compte, notamment dans les cellules d'*Allium cepa*, qu'il y a une dissemblance frappante entre mitochondries élaboratrices, représentées par les chondriocontes, et les mitochondries végétatives représentées par les mitochondries granuleuses et les courts bâtonnets. Pendant son processus d'altération, le chondriome perd de sa chromaticité. Ce sont surtout les chondriocontes qui présentent les plus grands changements. Dès le début, ils se gonflent et se transforment peu à peu en vésicules; dans le cas où le chondrioconte est allongé, tout l'organite présente une tendance vers le gonflement. Certaines portions, au contraire, tendent à

s'étrangler. L'étranglement s'achève par la rupture de la partie effilée, de sorte qu'un seul chondrioconte allongé peut donner naissance à plusieurs vésicules. Ces vésicules deviennent sphériques ou ellipsoïdes, et commencent à grossir peu à peu, pour prendre dans un stade ultérieur d'altération une forme vésiculeuse. A côté de ces vésicules très grandes, on observe de petites vésicules qui sont le résultat final de la transformation des mitochondries granuleuses et des courts bâtonnets (voir pl. 6, fig. 18 et 19). Mais l'altération de ces dernières se fait plus lentement et, généralement après la transformation des chondriocontes en vésicules.

Nous avons pu faire cette observation sur le chondriome d'*Allium cepa*, elle montre que les mitochondries apparaissent dans l'ensemble cellulaire, comme les organites les plus sensibles aux variations du milieu qui déterminent un changement dans les manifestations osmotiques de la cellule. Elle montre aussi que les solutions faibles (Hypotoniques) de sels de cuivre sont un milieu idéal pour nous rendre compte de ces changements. En outre, nous avons essayé de voir si la forme vésiculeuse est reversible, c'est-à-dire si un changement du milieu pouvait faire reprendre aux chondriocontes la forme qu'ils avaient avant l'expérience. La forme vésiculeuse est irréversible; en passant au milieu isotonique (7,6 p. 100 de saccharose), le changement ne déclanche pas de retour en arrière. Nous avons repris l'expérience et nous avons tenté le fait suivant: Nous avons déclanché l'apparition du phénomène et poursuivi la trans-

formation jusqu'à un certain degré de l'aspect vésiculeux des chondriocontes (bien avant l'alvéolisation du noyau). A ce moment, nous avons changé de milieu, mais au lieu d'utiliser une solution isotonique, nous avons employé un milieu hypertonique fort (3 p. 100 d'acétate de cuivre). Après une durée de contact de 20 minutes pour l'*Allium cepa*, nous avons observé que les chondriocontes qui, durant le phénomène, s'étaient gonflés, s'amincissaient quelque peu. Cet amincissement ne rappelle en rien la forme des chondriocontes des cellules examinées en milieu isotonique (7,6 p. 100 de saccharose). Ce retour en arrière nous a montré que les chondriocontes jouent probablement un certain rôle osmotique durant le phénomène. Car, nous avons pu observer que cette hypertonicité détermine une déshydratation brusque de la vacuole, déshydratation qui est étroitement liée à une exosmose dont la cellule est le siège.

Les changements que subit le noyau sont caractéristiques pour ces solutions faibles, et les altérations évoluent de la manière suivante : Tout d'abord, on peut faire la même remarque que pour les solutions fortes; par la lenteur de ses changements, le noyau est l'organite le plus résistant de la cellule. Ce n'est qu'après l'alvéolisation de la cellule due à l'altération du cytoplasme et du chondriome, que le noyau présente un faible gonflement. Ses parois nous donnent l'impression que, sous l'action du milieu, elles ont modifié leur élasticité tout en gardant leur épaisseur. Après un certain temps, on observe plus nettement les résultats de l'endosmose dont il est le siège, car

en se réhydratant, il gonfle puis desserre son réseau chromatique, et dans une phase ultérieure, il semble présenter un aspect alvéolaire. Pendant toutes ces transformations, la cellule est restée vivante, elle ne prend pas l'éosine. Elle n'est colorable que par les colorants vitaux : rouge neutre, etc..., qui se fixent d'ailleurs d'une manière très diffuse sur les composés vacuolaires (lesquels sont, d'après cette dernière réaction, dans un état d'extrême dilution).

Cet état peut durer plus ou moins longtemps, suivant l'emplacement qu'occupe la cellule dans le tissu et suivant l'état de son développement. Après un certain temps, la mort survient et à partir de ce moment, on assiste à la désorganisation de la cellule; elle devient perméable à l'éosine, qui se fixe sur le cytoplasme et le noyau. Le courant cytoplasmique qui, durant tout le phénomène est très faible, a complètement cessé; les vésicules formées par l'altération du chondriome sont tellement gonflées qu'elles offrent l'aspect de petites vacuoles. En outre, grâce il nous semble aux phénomènes endosmotiques dont la cellule est encore le siège, ces vésicules perdent complètement leur chromicité, et renferment un liquide parfaitement clair. Dans les cellules d'*Allium cepa*, la richesse en chondriosomes, la transformation de ceux-ci en vésicules, donnent à l'ensemble cellulaire un aspect alvéolaire, que Guillermond a décrit dans les cellules épidermiques des pétales de Tulipe. A partir d'un certain temps, les parois de ces vésicules cèdent à la pression qui règne dans leur intérieur et commencent à se déchirer en mettant en liberté

leur contenu qui se répand dans la masse cytoplasmique ; cette mise en liberté détermine une hydratation du cytoplasme qui devient très hyalin. Les parois vésiculaires ainsi déchirés ont une tendance à se transformer soit en petites granulations, soit à rester sous la forme de filaments très fins et courts, qui présentent en outre une tendance marquée à se rassembler.

Puis, le cytoplasme, lui aussi, commence sa désagrégation qui se traduit par l'apparition de petites vacuoles renfermant un liquide parfaitement hyalin, surtout dans le cytoplasme périvacuolaire. En outre, malgré sa forte hydratation, il donne l'impression de posséder une certaine rigidité. Ces phénomènes nous démontrent que l'équilibre a été rompu, et l'on commence à assister à une déshydratation. Les parois périvacuolaires commencent à se désorganiser, le suc vacuolaire est mis en liberté. A partir de ce moment, on assiste à un phénomène très brusque; le cytoplasme présente une tendance à se coaguler, et cette coagulation détermine *a fortiori* une diminution de volume. Il quitte les parois cellulaires pour se rassembler au milieu de la cellule; ce rassemblement possède parfois un contour irrégulier.

A partir d'un certain temps, qui est lié en quelque sorte à la marche des phénomènes de nature osmotique, on assiste à la déshydratation du noyau. Il commence à se contracter en exudant à son pourtour son eau probablement de constitution et saturation, qui détermine la formation de minuscules vacuoles renfermant un liquide clair. Puis, à partir d'un certain moment,

le noyau commence le dernier stade de sa désorganisation, il se coagule, ce qui détermine une grande diminution de son volume (parfois la moitié dans les cellules d'*Allium cepa*, avec une solution de nitrate de cuivre à 1 p. 500.000). Le contour nucléaire perd complètement son élasticité, et dans une dernière phase, le noyau apparaît comme une masse coagulée à aspect très dense, possédant un contour irrégulier.

Cette coagulation totale et la structure irrégulière du contenu cellulaire démontrent amplement la nature colloïdale de l'unité morphologique et physiologique de la vie. On sait, en effet, que la coagulation est une des propriétés fondamentales des colloïdes, on sait, en outre, que ces derniers peuvent se coaguler en présence de faibles quantités de sels et que, pour ce mode de réaction, on fait une séparation nette entre les colloïdes et les cristalloïdes. D'autre part, il nous semble qu'il doit *a fortiori* exister des relations quantitatives entre la masse de colloïde coagulé et la masse de sel nécessaire à sa coagulation. On sait, en effet, que la coagulation n'est pas un phénomène brusque et discontinu, qui trouve son origine lorsque la concentration du coagulant dépasse une certaine limite. La coagulation est toujours précédée, au contraire, d'une part, par une diminution régulière et constante de la pression osmotique, et, d'autre part, par les relations qui doivent exister entre les micelles cytoplasmiques et le liquide intermicellaire. C'est en cela que réside l'origine de toute la série des manifestations des solutions faibles des sels de cuivre sur

la cellule. Il nous semble également que la diminution de la pression osmotique qui déclanche le phénomène, doit être liée en quelque sorte aux équilibres de la membrane, lesquels consistent dans une inégale répartition des substances diffusables de part et d'autre d'une membrane semi-perméable, telle que la membrane cellulaire; car, comme nous venons de le voir, la plasmolyse relève, par son aboutissement, de phénomènes entièrement généraux. En outre, la diminution de volume qui se manifeste durant la phase de coagulation, nous montre que la pression osmotique extérieure est sensiblement plus grande que la pression osmotique intra-cellulaire. Par cette façon de voir, il nous semble que, généralement, il n'est pas nécessaire d'utiliser des solutions très concentrées pour arriver à de semblables résultats. L'ensemble du phénomène est sous la dépendance d'une fonction structurale, qui est étroitement liée aux concentrations du milieu extérieur.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Dans ce travail nous avions à étudier les effets de l'intoxication cuprique de la cellule vivante. Connaître le mécanisme intime de cette intoxication est, en effet, du plus haut intérêt pour la pathologie végétale, car le phytopathologiste souhaite d'employer ses fungicides d'une façon moins empirique.

Pour élucider cette question il fallait, par des observations très précises, établir l'action plasmolysante des sels de cuivre et leur action destructive sur les diverses parties de la cellule vivante. Nous avons donc tenté d'exposer d'abord, dans son ensemble, l'état actuel de nos connaissances sur la plasmolyse. Puis nous avons été amené à préciser l'action des fixateurs comme préambule des expériences détaillées sur « l'action spéciale des sels de cuivre à diverses concentrations ».

L'effet du milieu plasmolysant — hypertonique ou hypotonique — se fait sentir, après une durée de

contact plus ou moins longue. Sa manifestation dépend de l'emplacement qu'occupe la cellule dans le tissu, elle peut être différente chez deux cellules contiguës, et en apparence, identiques. L'action du milieu, en effet, varie suivant le comportement de la cellule vis-à-vis de celui-ci, suivant le degré d'évolution cellulaire et notamment le degré d'évolution vacuolaire, y compris les composés inclus dans le suc vacuolaire.

La membrane cellulaire bien différenciée, d'épaisseur bien définie et mesurable, est un colloïde complexe renfermant des lipoïdes. Elle ne joue qu'un rôle très effacé dans tout l'ensemble du phénomène. La plasmolyse, en effet, paraît dépendre, non pas de cette membrane, mais de quelque chose qui fait corps avec le cytoplasme et se rétracte avec lui, durant le phénomène, dans le lumen cellulaire.

Tous les sels de cuivre à des doses limites compatibles avec la vie cellulaire, sont toxiques. Cependant cette toxicité suit une loi qui s'écarte des lois générales, par lesquelles nous sommes habitués à exprimer la toxicité des sels. Si l'on exprime cette toxicité par des nombres pour les divers sels de cuivre, on s'aperçoit que ceux-ci sont, à quelques unités près, de même ordre de grandeur.

Tout au début de la plasmolyse (qu'on peut caractériser par le refus de la coloration vitale) on observe dans la cellule une période d'excitation qui détermine une faible intensité du courant cytoplasmique. Ce courant ne possède pas une direction bien définie, mais au contraire, des directions quel-

conques. Ce fait est dû à un inégal degré d'excitabilité du cytoplasme, et à une inégale pénétration du milieu plasmolysant à travers les interstices de la membrane cellulaire; ce qui détermine un changement de la composition du milieu cellulaire. Le cytoplasme, par son mouvement, tend à rétablir l'équilibre rompu.

Le mouvement brownien des corpuscules de nature métachromatique inclus dans le suc vacuolaire est le premier symptôme de la plasmolyse.

La colorabilité des organites cellulaires par les colorants vitaux est sous la dépendance de la marche de la plasmolyse, elle augmente d'intensité avec celle-ci.

Au début de la plasmolyse, les chondriocontes ont une tendance à s'anastomoser surtout dans le cytoplasme périnucléaire.

A partir d'un certain moment, l'excitabilité du cytoplasme est transmise à la vacuole, qui se contracte en exudant son eau de constitution, de combinaison et de saturation.

La réfringence du cytoplasme augmente avec l'intensité de la plasmolyse.

Au contraire, la chromaticité du chondriome diminue peu à peu pour disparaître presque complètement, dans la dernière phase de la plasmolyse.

Dans les cellules plasmolysées on observe, à partir d'un certain moment, des formations aux dépens du périplasme de deux sortes de filaments. Les premiers très fins, ne renferment jamais de chondriome mais souvent des globules graisseux, ont la propriété de se dichotomiser en arrivant près des parois cellu-

laires. Ces filaments assurent vraisemblablement la continuité entre le cytoplasme affecté par le milieu ambiant et les parois cellulaires; et peut-être jouent-ils un rôle important dans la nutrition de la membrane cellulaire. Les seconds filaments plus épais, ne se dichotomisant jamais, renferment parfois du chondriome semblent bien être des plasmodesmes : ils assurent, durant une certaine période de la plasmolyse, les communications intercytoplasmiques.

Le périplasme possède une structure changeante, en équilibre avec les états variables de la cellule. Pendant la plasmolyse, en effet, les constituants cytoplasmiques abaissent leur tension superficielle et s'accumulent à la surface. On sait depuis Owerton, que les lipoïdes gagnent la surface libre de la phase liquide qui les contient. Ce phénomène est connu et expliqué en chimie-physique, pour les substances qui abaissent la tension superficielle. Par leurs réactions, les protéines se concentrent en une couche superficielle, et à un degré qui excède leur solubilité, si bien qu'elles se déposent sous une forme plus ou moins rigide. Cette formation est capable de se redissoudre si elle est ramenée, par déplasmolyse, à son état initial. Son épaisseur ne peut pas être une expression réelle, une paroi définie, ou bien une couche, puisqu'elle dépend de l'intensité du phénomène lui-même. Son inconstance, aussi bien que le rôle qu'elle semble remplir durant le phénomène, sont étroitement liés, d'une part au milieu, et d'autre part, aux réactions incessantes dont la cellule est le siège. Cette pseudo-paroi ne peut pas être séparée chimiquement et

morphologiquement du reste de cytoplasme, étant donné son origine. L'existence permanente que certains auteurs lui ont attribuée n'est pas valable, son apparition étant liée à l'abaissement de la tension superficielle, abaissement qui lui-même est régi par un phénomène accidentel.

En ce qui concerne l'hypothèse que cette formation est différenciée aussi bien vers l'intérieur que vers l'extérieur, aucun des faits que nous avons observé ne permet de souscrire à une pareille suggestion. On a pu voir nettement que cette formation tansitoire présente un aspect très réfringent, ne renferme jamais du chondriome et ses micelles ne prennent pas part au mouvement cytoplasmique.

Durant la plasmolyse, la division de la masse cytoplasmique amène la division par étranglement de la vacuole. Cette formation est réversible, c'est-à-dire que si l'on déplasmolyse, la réhydratation de la cellule amène un refusionnement des vacuoles filles; la masse cytoplasmique reprend sa forme primitive.

La formation des boules sarcodiques de DUJARDIN, rappelant jusqu'à un certain degré les figures myéliniques, n'est que l'expression d'une réaction des composés de nature graisseuse (lécithine, cholestérine) qui, probablement, entrent dans la composition du suc cytoplasmique intermicellaire. Ces substances graisseuses, au contact d'un milieu fortement hypotonique, tel que le suc vacuolaire, se décomposent grâce au fait que la presque totalité des composés phénoliques en suspension dans le suc vacuolaire ont précipité durant le phénomène. Ces composés entraî-

nent dans leur migration, non seulement une partie d'ailleurs minime du cytoplasme, mais aussi du chondriome. Si l'on déplasmolyse, ces formations semblent se rétrécir sans diparaître toutefois, car une cellule arrivée à cette phase de la plasmolyse est incapable de reprendre sa vie normale. En résumé : ces formations sont des formes liquides à expression filamenteuse courbées d'une façon continue, à structure définie, biréfringentes, correspondant à un état d'équilibre stable et pouvant persister. En effet, si pendant le phénomène on arrête la marche du phénomène, on observe une parfaite stabilité de leur évolution. Elles doivent jouer un grand rôle dans la désagrégation de la matière vivante; leur apparition, ainsi que leur évolution, achève la déshydratation de la vacuole, leur disparition coïncide justement avec la mort de la cellule.

Au cours de la plasmolyse, le noyau en se déshydratant diminue de volume, ses parois semblent perdre de leur élasticité. Vers la fin de la plasmolyse il ne possède plus le contour régulier qu'il avait au début ; les nucléoles semblent se résorber tout en demeurant visibles.

La formation de certaines petites vacuoles qu'on observe durant la plasmolyse, est due à une déshydratation du cytoplasme qui élimine son eau de constitution entre ses mailles, en un point donné.

Les chloroplastes complètement évolués sont, avec le noyau, les organites les plus résistants de la cellule aux troubles asmotiques et aux intoxications de la cellule par les sels de Cu. Pendant le dernier stade

de la plasmolyse précédant la mort de la cellule, ils apparaissent au milieu de la cellule complètement désorganisée, avec le même aspect qu'au début du phénomène. Néanmoins certaines plastes apparaissent fortement contractées, cette contraction semble due à leur incomplète évolution.

Nous avons obtenu la coloration vitale du chondriome par le vert janus; cette coloration apparaît d'autant plus clairement que le chondriome arrive vers une phase plus stable de son évolution. Dans les cellules jeunes, même lorsque l'on obtient une coloration, elle est très effacée et semble due moins au colorant qu'à la chromaticité naturelle du chondriome. Tandis que dans les cellules plus évoluées et dans les cellules âgées, on observe nettement l'influence du colorant.

Dans l'étude sur la plasmolyse, concernant la cellule d'*Elodea Canadensis*, nous avons observé nettement que la formation et l'évolution des chlorplastes sont activement stimulées par les solutions des sels de Cu. comprises entre 2 p. 100 et 1 p. 1.000 et tout particulièrement avec les sels de Cu., d'origine ninérale.

La plasmolyse nous révèle que tant que la cellule est restée vivante, l'absorption est proportionnellement beaucoup plus forte par des traces, que pour des grandes quantités des sels de Cu. dissoutes. Elle est spécifique, et d'une façon générale elle est d'autant plus forte que la surface de contact est plus grande. Ce fait est vérifié pendant la plasmolyse.

Au commencement, les phénomènes présentent quelque brutalité; ils s'atténuent au fur et à mesure

que la plasmolyse avance, parce que le cytoplasme possède un moindre contact avec le milieu plasmolysant qui équivaut à une plus grande dilution des solutions.

La concentration du milieu hypertonique, qui correspond au maximum de déshydratation cellulaire, n'est probablement pas la même; par suite, si cette concentration augmente progressivement, les différents organites de la cellule se saturent les uns après les autres et la netteté du phénomène observé au début de la plasmolyse perd de sa clarté.

Les mitochondries élaboratrices et lès mitochondries végétatives réagissent différemment pendant la plasmolyse; les premières, représentées par des chondriocontes, restent minces et rigides malgré le retour en arrière (par le le milieu isotonique) dans la dernière phase de la plasmolyse et malgré la vie cellulaire nouvelle; les secondes, représentées par des mitochondries granuleuses et par des courts bâtonnets, présentent le même aspect qu'au début de la plasmolyse. Ce phénomène apparaît avec une grande netteté, pour les concentrations faibles des sels de Cu. de 1 p. 100.000 et au delà.

La dernière phase de la plasmolyse, qui aboutit à la désorganisation complète de la cellule, est due purement à un phénomène de nature endosmotique.

Le mouvement brownien des mitochondries granuleuses et des boules graisseuses sont un indice de l'altération du cytoplasme.

Au fur et à mesure que la plasmolyse approche de sa phase finale, les concentrations des milieux

isotoniques employées pour le retour en arrière de la cellule deviennent plus fortes, sans toutefois dépasser la limite isotonique 8,4 p. 100, au delà de laquelle elles exercent une influence hypertonique.

Dans le stade qui précède la mort de la cellule, la désorganisation de la mince couche albuminoïde périplasmique prend son origine dans la paroi qui est située toute proche du noyau, et nulle part ailleurs.

Dans la phase qui précède la mort de la cellule, le noyau présente un aspect faiblement alvéolaire.

La désorganisation des parois périvacuolaires est en relation, d'une part avec la nature des composés que le suc vacuolaire renferme, et d'autre part, avec le stade du métabolisme cellulaire, car il y a une étroite liaison entre l'isolement de la vacuole et l'état de l'évolution cellulaire.

Dans la dernière phase de la plasmolyse, le noyau se déshydrate énergiquement (destruction de la paroi périvacuolaire) et il apparaît fortement coagulé.

Durant le phénomène de la plasmolyse, la paroi du noyau semble perdre de son élasticité.

Pendant la plasmolyse, la cellule augmente de volume, cette augmentation se manifeste par la courbure que présentent ses parois; celles-ci perdent par cette manifestation leur élasticité. Les angles de la cellule deviennent beaucoup plus grands (Spirogyres). Ce fait nous indique la nature osmotique de toutes les perturbations.

Dans une même assise des cellules on observe des degrés différents de plasmolyse.

La diminution de la pression osmotique, qui se

manifeste durant la phase de coagulation, nous montre que la pression osmotique extérieure est sensiblement plus grande que la pression osmotique intra-cellulaire.

Généralement il n'est pas nécessaire d'employer des solutions concentrées pour déclancher la plasmolyse. La plasmolyse consiste dans le fait suivant : En ajoutant à l'eau qui baigne une cellule vivante, des quantités croissantes de sels, on parvient à déterminer pour chacune de ces matières, une concentration telle que la tension du protoplasme étant annulée, celui-ci se détache de la paroi cellulaire, se contracte ensuite en éliminant l'eau de saturation et l'eau de constitution.

Pendant le premier stade de la plasmolyse, la force osmotique trouve son expression dans la pression qui règne à l'intérieur de la cellule.

La cellule ne prend pas intantanément la coloration des colorants vitaux, mais cette coloration n'est possible que dans les cellules qui donnent déjà des signes de perturbation dans l'équilibre osmotique.

La plasmolyse nous montre que le protoplasme est de nature colloïdale, toute autre hypothèse sur sa nature rendrait difficile l'explication au point de vue chimique de ce phénomène si complexe.

En réagissant contre le milieu, la cellule modifie son pouvoir osmotique et la limite inférieure de cette excitation est produite par le milieu isotonique. Généralement la réaction est pour ainsi dire proportionnelle au logarithme de l'excitation, c'est-à-dire que la réaction croît en progression arithmétique, quand l'excitation croît en progression géométrique.

L'élévation de la température accélère le phénomène

de la plasmolyse à condition de ne pas dépasser une limite qui se trouve aux environs de 50°. Au delà, le chondriome constituant la plus délicate partie de la cellule se dissout. Il s'agit ici, naturellement, des cellules turgescentes. En vie ralentie et déshydratée, le phénomène se présente dans d'autres conditions.

L'adaptation de la cellule à la concentration du milieu ne trouve son expression que dans le sens manifeste du comportement des organites cellulaires vis-à-vis de l'ambiance, car le comportement est d'autant plus manifeste que l'équilibre entre la cellule et le milieu garde plus longtemps une tendance vers l'isotonie. La cellule possède le pouvoir de créer, durant le phénomène, des corps osmotiques nouveaux qui peuvent retarder ou annuler l'influence du milieu.

La plasmolyse n'est nullement influencée par le travail photochimique : des expériences faites à l'abri de toute lumière, manifestent un même ordre de grandeur que celles faites en pleine lumière.

La plasmolyse avec des solutions fortes à 5 p. 100 nous montre, dans les cellules âgées, des formations présentant l'aspect de minuscules bourgeons filamenteux, se formant dans le cytoplasme périnucléaire. Ils renferment un contenu à aspect semi-fluide qui se colore fortement par le rouge neutre. Par leur mode de réaction sur le rouge neutre, ces formations nous indiquent que nous sommes en présence de petites vacuoles. Celles-ci résultent de la fragmentation de la grande vacuole, fragmentation qui est due à une déshydratation énergique des agrégations de la grande vacuole. Ces formations sont réversibles, c'est-à-dire que par réhydratation elles disparaissent.

La plasmolyse nous révèle que pour chaque concentration du liquide intermicellaire il y a une certaine réaction d'équilibre, cette dernière est possible dans les deux sens (isotonicité).

L'absorption est proportionnellement beaucoup plus forte pour des traces, que pour des grandes quantités de sels de Cu, elle est spécifique, et d'une façon générale, elle est d'autant plus forte que la surface de contact est plus grande.

Au fur et à mesure que les phases de la plasmolyse se rapprochent de la mort de la cellule, la concentration de la solution isotonique employée pour déclancher le retour en arrière, devient plus forte. Elle ne doit cependant pas dépasser une limite qui est étroitement liée à la vie, et qui est le terme maximum de l'isotonicité (8,4 p. 100 de saccharose), au delà de cette limite, la solution isotonique passe à l'hypertonicité.

Le terme final de la plasmolyse nous montre des phénomènes de nature endosmotique.

Les solutions faibles des sels de Cu. déterminent des altérations qui sont restreintes au cytoplasme et au chondriome, contrairement aux solutions fortes elles n'ont pas d'action sur la vacuole et elles sont de nature endosmotique.

La plasmolyse aboutit à des phénomènes généraux, l'ensemble de ses manifestations est sous la dépendance de l'évolution cellulaire, qui est étroitement liée aux concentrations du milieu extérieur. Le phénomène physique de la concentration semble dominer le phénomène d'intoxication chimique dû à l'action des sels de Cuivre.

BIBLIOGRAPHIE

Albrecht. — Sur la structure du protoplasma. XV^e^ Congrès international de Médecine. *Lisbonne*. 1906.

Alexiew. — Mitochondries et corps parabosal chez les Flagellés *C. R. Soc. Biol.* 1917. Paris.

— Mitochondries et rôle morphogène du noyau. *C. R. Soc. Biol.* 1917. Paris.

— Sur les Mitochondries à fonction glycoplastique. *C. R. Soc. Biol.* 1917. Paris.

— Sur la fonction glycoplastique du Kinétoplaste chez les Flagellés. *C. R. Soc. Biol.* 1917. Paris.

Aloy. — Les phénomènes d'oxydations dans la cellule. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*. T. 49, p. 359. 1921.

Altmann. — Die Elementarorgonismer und ihre Beziehungen zu den Zellen. *Leipzig*. 1889.

Alvorado. — Plastosomas y leucoplasto en Algunas Fanerogomas- *Trabayos del Laboratorio de Investigaciones bilogicas de la Universitad de Madrid*. 1918.

— Él chondriomo y el systéma vacuolar en las cellulas vegetales. *Boletin de la Real. Societad Espaniola di Historia natural*. 1918.

— Sobre el estudio del chondrioma de la celula vegetal con el metodo tano argentico. *Ibid*. 1918.

— Sobre el verdarero significando del « Sistema de fibrillas » conductor de las excitationes en las plantas de Nemec. *Boletin de la Real Societad Espaniola di Historia natural*. 1919.

André (M.-G.). — Sur la composition des liquides qui circulent dans le végétal variation de l'azote dans les feuilles. *C. R. Acad. des Sciences*. T. 142, p. 106. Paris 1906.

— Sur la migration des principes solubles dans le végétal. *C. R. Acad. des Sciences*. T. 144, p. 383. Paris. 1907.

André (M.-G.). — Sur la diffusion des matières salines à travers certains organes végétaux. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 150, p. 1857. Paris.

— Conservations des matières salines chez une plante annuelle. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 150, p. 965. Paris.

— Sur la conservation des matières salines pendant le cours de la végétation annuelle. *Ibid.* T. 151, p. 1.378. Paris. 1910.

Anonyme. — Résumé des discussions sur la toxicité du cuivre. *Bull. Soc. Path. végét.* T. 8, p. 158. Paris. 1921.

Arbaumont (D'). — Sur la formation de l'amidon dans les organes souterrains de quelques espèces herbacées. *Bull. Soc. Bot.* Paris. 1916.

Arnold (I). — Zur Morph. des Knorpelglykogens und Zur Struktur der Knorpelzellen. *Wichow's Arch.* T. 194. 1908.

— Uber Plasmastrukturen. *Yena.* 1914.

Asvadourova. — Recherches sur la formatoin des pigments de quelques cellules pigmentaires *Arch. d'Anat. micros.* 1913.

Bailly (F.) — Influence du traitement au sulfate de cuivre sur la germination du blé. *C. R. Acad. d'Agriculture,* p. 1005. Paris. 1924.

Baly, Heilbroun et Stern. — Photocatalysis. II. et III. *II. Journ. Chem. Soc.* T. 121, p. 1078. 1922. *III. Journ. Chem. Soc.* T. 123, p. 185. 1923.

Bang et Sjovall. — Studien über chondriosomer unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Beitrage path. Anatomie und zur algemeinene. Path.* 1916.

Beauverie (L.). — Sur le chondriome d'une Uridinée « *Le Puccinia malvaccarum* ». *C. R. Soc. de Biol.* T. 76. Paris 1914.

— Sur le chondriome des Basidiomyoctes. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 158. Paris. 1914.

— Action de la pression osmotique du milieu sur la forme et la structure des plantes. *Rev. Gén. de Bot.* T. 23. Paris.

Beez (R.). — Sur les élaïoplastes. *Ann. of Botany.* 1913.

Belzung. — Marche totale des phénomènes amylo-chorophylliens. *Journ. de Bot.* 1895.

Benda (C.). — Weiter Mitteilungen über die Mitochondria. (Verh. des Phys. ges. zu Berlin). *Arch. f. Anat. und Phys,* p. 376. 1899.

— Die Mitochondria. *Ergbn. d. Aanat. u. Entwikl. gesell.* 1902.

— Die Bedentung der Zelleistruk für die Patologie. *Verch. d. deutsch. path. gesell.* Bd. 17 Taung in München.

Berthelot (A.). — Nouvelle bouillie insecticide et anticryptogamique pour la vigne. *Rev. de Vit.* T. 51. N° 1.321, p. 266. Paris. Octobre 1919.

Bertrand (G.). — Sur le rôle de l'infiniment petit chimique en agriculture. *Ann. de l'Ins. Pasteur,* T. 26. Paris 1912.

Blackman. — Optima and Limiting Factors. *Ann. of. Bot.* T. 19, p. 281. 1905.

Bonnet (Y.). — L'ergatoplasme chez les végétaux. *Anat. Anzeiger.* 1911.

Bonnier (Gaston). — Recherches sur la transmission de la pression à travers les plantes vivantes. *Rev. Gén. de Bot.* T. 5, pp. 12, 74 et 100. Paris.

Bokorny. — Ueber Aggrégation. *Iahrb. f. Wissensch. Bot.* 1889.

Bosinelli (G.). — Action du soufre libre sur la végétation. *La stationе sperimentali Agrairie Italiene.* Vol. 48, fasc. 3, p. 175. Modena. 1915.

Botazzi. — Isistemi colloïdali del organismo vivanto. *Archivo di Sienze biologische.* T. 4, p. 443. 1923.

Boulet. — *Sur la membrane de l'hydrolencite. Rev. Gén. de Bot.* 1900.

Bræmer (D.). — Les tanoïdes, introduction critique à l'histoire physiologique des tanins et des principes immédiats des végétaux qui leur sont chimiquement alliés. *Thèse de phdrmacie.* Toulouse. 1890.

Bredow. — Beitrage zur Kenntniss der chromatophoren. *Jahrbücher f. Wissensch. Bot.* 1890.

Beooks (M.-M.). — The penetration of cations intro living cells. *Journ. Gen. Physiol.* Vol., 4, p. 347. 1922.

Bruttini (A.). — Sur la bouillie sulfo-calcique ou de polysulfures de calcium comme insecticide et fongicide. *Imprimerie polyglotte.* 36 pages plus 6 figures. Rome. 1920.

Buscalioni. — Sui lipoidi nei chloroplasti en nei cromoplasti. *Bollettino dell Academio Gionia de Sci. nat. in Catania.* 1912.

Butscill. — Untersuchungen über mikroscopische Schaume und das Protoplasma. *Leipzig.* 1892.

Belval (H.). — La genèse de l'amidon dans les céréales. *Rev. Gén. de Bot.* T. 36, pp. 308, 337 et 395. Paris. 1924.

Cajal (R.). — L'appareil réticulaire de Colgi-Holmgren coloré par le nitrate d'argent. *Trav. du Lab. des rech. biolo. de l'Université de Madrid.* 1907.

Calabressi (G.-A.). — La bouillie sulfo-calcique dans la lutte contre la Fumagine et la cochenille. *Il cultivatore.* 59e Année, n° 1. Casale Montferrato. 1913.

Calugareanu et Henry (V.). — Diffusion des matières colorantes dans la gélatine et dans l'eau. *C. R. Soc. Biol.* T. 53, p. 579. 1901.

Campredon (E.). — Les solutions simples de sulfate de cuivre contre le « Mildiou » de la vigne. *Torino.* 1918.

Campus (J.). — Comparaison entre les effets des bouillies cupriques et les bouillies acides contre le « Mildiou » de la vigne. *C. R. des Séances de l'Acad. de l'Agriculture de France.* T. 4, p. 86. Paris 1918.

Carles (F.). — Vins blancs cuivreux à l'ouche tardif intens. *Ann. des Falsifications et des Fraudes.* Année II, n. 111-112, p. 43. Paris. 1918.

Castana (S.). — Action du cuivre sur la végétation de la vigne et sur sa résistance à la sécheresse. *Giornale vinicolo italiano.* Anno 46, n° 27, p. 236. Cassale Montferrato. 1919.

Cerasoli (E.). — Sur la dissolution des composés cupriques anticriptogamiques à la surface des organes verts de la vigne. *Revista di Patologia végétale.* Année 9, n. 5 et 6, p. 70. Paris. 1921.

Chabrdin (C.). — Sur la toxicité du cuivre. *Rev. path. vég. et entom. agri.* T. 10, p. 132. Paris. 1923.

Chambers (R.). — Microdissection studies. The visible structure of cell. protoplasm. and death changes. *Amer. Journ.. Phys.* T. 43, p. 1. 1917.

— The effect. of experimentally induced. changes in consistency of protoplasma movement. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* T. 19, p. 87. 1921.

— The Physical structure of protoplasmas determined by microdissection. *Cowdry's General cytology.* P. 237. Chicago. 1924.

— The action of électrolytes on the physical state of protoplasma. *Amer. Nat.* N° 60, p. 121. 1926.

Chifflot et Gautier. — Sur le mouvement intra-cytoplasmique à forme brownienne de granulation cytoplasmique. *Journ. de Botanique.* 1905.

— Sur le mouvement brownien intra-protoplasmique des granulations protoplasmiques. *C. R. Soc. Biol.* T. 89, p. 236. Lyon. 1923.

Chodat et Bourbier. — Sur la plasmolyse de la membrane plasmique. *Journal de Bot.* 1896.

Chodat (F.). — Contribution à l'étude du gonflement des Protéides. *C. R. des Sci. de la Soc. de Phys. et d'Hist. Nat. de Genève.* Vol. 41, p. 8. 1924.

— Contribution au problème des perméabilités cellulaires. Etude du gonflement de la gélatine sous l'influence de l'urée. *Bull. Soc. de Chimie Biol.* T. 7, n° 11, p. 113. Paris. 1925.

Clowes (G.-H.-A.). — Protoplasmes equilibrium. *Journ. Phys. chim.* N° 20, p. 407. 1916.

Coloret (A.). — Action du cuivre sur la végétation de la vigne et sur sa résistance à la sécheresse. *Le Progrès agricole et viticole.* Année 39. T. 68, n° 40, p. 318. 1918.

Combes (R.). — Recherches microchimiques sur les pigments anthocyanique. *Assoc. pour l'avenc. des Sci.* Dijon. 1911.

Comes-Arazio. — Corrélation entre l'acidité des sucs des blés et la résistance aux « rouilles ». *Atti. des R. Instituta d'Incoraggiamento di Napoli.* Série 4. Vol. 9, p. 22. Napoli. 1923.

Cowdry (N.-H.). — A comparaison of mitochondria in plant and animal cells. *Biol. Bull.* 1917.

Cowdry. — The vital staining of mitochondria vith Janus gréeen and die thysalfranin in human blood cells. *Internat. Monatsch. f. Anat. und Physiol.* T. 39, p. 267. 1914.

Crato (E.). — Die physode, ein Organ des Zellenleibes. *Ber. der. Deutsch Bot. Gessel.* Boden II. 1892.

Crémien (V.). — La croissance des végétaux et les principes de la physique. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 176, p. 263. Paris. 1923.

Crivelli (E.). — Production commerce et consommation du sulfate de cuivre dans le Monde. *Industria chimica.* 13e Année, n° 24, p. 369. 1 diagrame. Torino. 1913.

Czapek (F.). — Biochimie des Pflanzen. I et III Bd. 1905-1920.

Dangeard (P.-A.). — Structure et communications protoplasmiques de la « Bactridium flavium ». *Le Botaniste.* VIIe. Paris. 1900.

— Le phénoïde chez les Cryptomonadinées. *Bull. Soc. Bot. de France.* T. 58. Paris. 1911.

— La métachromatine chez les « Mucorinées ». *Bull. Soc. Mycol.* T. 32, pp. 1 et 2. Paris. 1916.

— Observations sur le chondriome des « Saprolegna », sa nature, son origine et ses propriétés. *Bull. Soc. Dycol.* T. 32, p. 3 et 4. Paris, 1916.

— Note sur la vitesse de pénétration des substances dans la cellule végétale. *Bull. Soc. Biol. de France.* Paris. 1916.

— La métachromatine chez les Algues et les Champignons. *Bull. Soc. Biol. de France.* Série 4. Paris. 1916.

— Nouvelles observations sur la nature du chondriome dans les plantes et ses rapports avec le système vacuolaire. *Bull. Soc. Biol. de France.* Paris. 1916.

— Note sur les corpuscules métachromatiques des levures. *Bull. Soc. Mycod. de France.* T. 32. Paris. 1916.

— Sur la nature du chondriome et son rôle dans la cellule. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 166, p. 439. Paris. 1918.

— Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 169, p. 1005. Paris. 1919.

— La structure de la cellule végétale dans ses rapports avec la théorie du chondriome. *C. R. Acad. des Sciences.* P. 120. Paris. 1921.

— Sur la nature du sphérome dans la cellule végétale. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1921.

— La structure de la cellule végétale et son métabolisme. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1922.

— Recherches sur la structure de la cellule dans les Iris. *C. R. Acad. des Sciences.* P. 1.653. Paris. 1922.

— Sur la structure de la cellule chez les Iris. *C. R. Acad. des Sciences.* Juillet. Paris. 1922.

— Sur la métochromatine et les composés tanniques des vacuoles. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 171. Paris. 1920.

Dangeard (P.-A.). — Sur l'évolution du système vacuolaire chez les Gymnospermes. *C. R. Acad. des Sci.* P. 474. Paris. 1920.

— L'évolution des grains d'alcurone en vacuole ordinaire, et la formation des tannins. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 172. Paris. 1921.

— Sur l'origine des vacuoles aux dépens de l'aleurone pendant la germination des graminées. *C. R. Acad. des Sciences.* P. 319. Paris. 1922.

— Sur l'origine des vacuoles et de l'anthocyone dans les feuilles du rosier. *Bull. Soc. Bot. de France.* T. 69. Paris. 1922.

Darnell-Schmit (G.-P.). — Le traitement à sec avec le carbonate de cuivre appliqué aux caryopses de blé, comme moyen préventif de la lutte contre la « carie ». *The. Agric. Gazette of. New. South Wales.* T. 30, p. 685. Sydney. 1919.

Davidson (Y.) et Wherry. — Variation de la concentration des inos hydrogène produits par le développement des plantules en solutions acides. *Journal of. Agricultural Research.* T. 27, n° 4, p. 207. Washington. 1924.

Davergne (Y.) et Veill (Mlle). — Sur la culture des plantes en milieu stérile. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 147, p. 389. Paris. 1923.

De Heen (C.-Y.-F.). — Détermination, à l'aide d'un appareil nouveau, du coefficient de diffusion. Les sels en solution de cuivre et de variation que cette quantité éprouve avec la température. *Sydney.* 1923.

Demoussy (E.). — La germination des grains de blé traités au sulfate de cuivre. *Ann. agronomiques.* T. 32. Paris.

Derschau. — Zur Chromatindualismen des Pflanzenzellen. *Arch. f. Zollforschung.* 1914.

Devaux (H.). — De l'absorption des poisons mataliques très dilués par les cellules végétales. *C. R. Acad. des Sciences* T. 132, p. 717. Paris. 1901.

— Généralité de la fixation des métaux par la paroi cellulaire. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 131, p. 58. Paris. 1901.

— Comparaison des pouvoirs absorbant des parois cellulaires. *Procès-verbaux des Séances de la Soc. sci. phy. et nat.* Bordeaux. P. 32. 1903-1904.

Dubois (R.) — Vie et lumière. *Alcan.* Paris. 1914.

— A propos d'une note de M. A. Valdiguie intituliée : « Les sels de cuivre peuvent agir à la fois comme oxydases et comme peroxydases ». *C. R. Soc. de Biol.* T. 89, p. 10. Paris. 1923.

Diéné (Ch.). — La Physico-Chimie colloïdale des protéines. Remarques sur les travaux de Jacques Loeb, d'après des observations personnelles. *Annales de Physiol. et de Physico-Chimie biol.* II, n° de janvier.

Dubreuil. — Le chondriome et le dispositif de l'activité secrétoire aux différents stades du développement des éléments cellulaires de la ligne conective descendants du lymphocytes. *Arch. d'Anat micr.* T. 15. 1913.

Duesberg. — Plastomen « apparato reticolare interno » und chromidial apparat. *Ergebnisse der Anatomie une Entwichengeschichten.* 1912. P. 567.

Dutrochet (R.). — Nouvelles observations sur l'Endosmose et l'Exosmose et sur la cause de ce double phénomène. *Ann. Chim. phy.* Série II. T. 35, p. 393. 1827.

— Nouvelles observations sur l'Endosmose et l'Exosmose. *Ann. Chim. phy.* Série II. T. 37, p. 191. 1828.

— Du pouvoir d'Endosmose considérée comparativement dans quelques liquides organiques. *Ann. Chim. phy. Série* II T. 77, p. 159. 1832.

Engelman. — Neue Méthode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung pflanzlicher und Thierscher organismen. *Bot. Zeit.* 1881.

- Farbe und Assimilation. *Bot. Zeit.* 1888.

Emberger (L.). — Recherches sur l'origine et l'évolution des plastides chez les Pteriodophytes. *Thèse de Doctorat Sorbonne.* 1921. Paris.

— Evolution des plastides dans le règne végétal. *Rev. Scientif.* N° 2. Janvier 1922.

Eriksson. — Développement primaire du Mildiou « Phytophtora infestans » au cours de la végétation de la « Pomme de terre ». *Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1917.

Escher. — Zur Kenntniss des carotins und Lycopins, *Zurich.* 1909.

Fauré-Fremiet, Mayer et Schaffer. — Sur la constitution et et le rôle des mitochondries. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1909.

Fauré-Fremiet. — Etudes sur les Mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. *Arch. d'Anat. microscop.* T. 9. 1910.

— Etude cytologique sur quelques infusoires des marais salants du Croisic. *Arch. d'Anat. microsop.* T. 2. 1912.

Fernbach. — Sur la dégradation biologique des hydrates de carbone. *C. R. Acad. des Sci.* T. 151, p. 1004. Paris. 1910.

Fiessinger. — Contribution à l'étude des dégénérescences de la cellule hépatique au cours de certaines intoxications brutales chez les Batraciens. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1909.

Fischer (A). — Untersuchungen über vitale Farbung. *Anat. Hefte.* 16, p. 415.

Fischer (M.-A). — On the theory of lyophilic colloïds ont the behavior of protoplasma. *Colloïd. Symp. Mon.* T. 1, p. 244. 1923.

Fischer (A). — Fixierung, Farbung und Bau des Protoplasma. 1889.

Fischer (M.-A.), Martin (H.) und Sykes Anne. — Uber die nicht saure un nicht alcali Hydration des Proteins.

Flemming. — Morphologie der Zelle. *Ergebniss der Anat. und Entwichlungesch.* 1893-1898.

Fleury et Tavernier. — Peut-on employer l'acétate de cuivre

pour doser le glucose en présence du lactose. *Journ. de Pharm. et de Chimie.* T. 30, p. 225. 1924.

Foes (H.). — Sur quelques recherches concernant le développement et le traitement du Mildiou. *Rev. de vit. 20 années.* T. 39, n° 999, p. 161. Paris. 1913.

Foex (E.). — Résultats fournis par les bouillies sans cuivre pendant la campagne 1921. *Bull. Soc. Pat. vég.* T. 8, p. 112. Paris.

Fonzes-Diacon. — Sur les bouillies mouillantes. *Progrès agricole et vit.* 30e année, n° 11, p. 331. Montpellier. 1913.

— Sur les bouilles cupriques. *C. R. hebdomadaires des Sci. de l'Acad. des Sci.* T. 160. Paris. 1915.

— Le cuivre élément actif des bouillies. *Progrès agricole et vit.* Année 38. N° 52, p. 611. Montpellier. 1921.

Forenbacher. — Die chondriosomen als chromatophorenbildner. *Ber. d. Deutsch. Bot. Gesel.* Bd. 29. 1911.

Fron. — Influence de la bouillie bordelaise sur les spores du « Spicaria farinosa » var. verticiloïdes; parasites des chenilles de la cochylis et d'Eudémis. *Bull. des Séances de la Soc. Nat. d'Agr. de France.* T. 70, n° 8, p. 742. Paris. 1912.

Gain (E.) et Apsit (J.). — Les grains tués par anesthésie conservent leurs propriétés diastasiques. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 149, p. 58. Paris. 1909.

Gard (M.). — A propos de la germination des conidies du mildiou de la vigne. *Bull. Soc. Pat. Végét.* T. 8, p. 130. Paris. 1921.

— Les bouillies cupriques modifient les propriétés physiques de la surface des feuilles sur lesquelles elles sont sont appliquées. Deuxième note. *Rev. Pat. Végét. et Entom. Agric.* T. 10, p. 332. Paris. 1923.

Gaidukow. — Ultramikroskopische Untersuchungen über das Protoplasma. *Med. Klein. Iahr.* 1907.

— Die ultramikroskopie an Zellen. *Munschen Med. Wochenschr.* 1907.

— Dunkelfeldbeleuchtung und Utramikroskopie in der Biologie und Medizin. *Iena.* 1910.

Garner (U.-W.); *and* Bacon, and Aliard. — Le photopériodicité par rapport à la concentration des ions hydrogènes de la cellule et de la teneur en hydrates de carbone de la plante. *Journ. of. Agri. Research.* Vol. 27, n° 3, p. 119. Wasynthon. 1924.

Girard (F.). — L'électrisation de contact en Biologie. *Rev. Gén. Sci.* T. 20, p. 694. Paris. 1909.

— Mécanisme électrostatique de l'hémiperméabilité des tissus vivants aux électrolytes. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 150, p. 1446. Paris. 1910.

— Mécanisme électrostatique de l'osmose. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 151, p. 99. Paris. 1910.

— Sur le rôle prépondérant des deux facteurs électrostatiques

dans l'osmose des solutions d'électrolyes. Mouvement osmique normaux. *Ibid.* T. 153, p. 401. Paris. 1911

Girard (F.). — Essai d'une schéma physique de l'hémiperméabilité des cellules vivantes aux ions. *Ibid.* T. 159, p. 376. Paris. 1914.

— Mécanisme électrostatique de l'hémiperméabilité des membranes aux ions. *C. R. Soc. Biol.* T. 76, p. 839. Paris. 1914.

— Osmose et diffusion d'ions à travers d'un septum polarisé. *Journ. Chimie physique.* T. 17, p. 383. Paris. 1911.

— Schéma physique pour servir à l'étude de la nutrition minérale de la cellule. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 168, p. 1335. Paris. 1919.

— Relation entre l'état électrique de la paroi de la cellule et sa perméabilité à un ion donné. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 169, p. 94. Paris. 1919.

Girard (F.) et Morax. — Echanges liquides par osmose à travers des tissus vivants. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 170, p. 822. Paris. 1920.

Girard (F.). — Des processus biochimiques d'oxydation et de réduction et l'activation catalittique. *Bull. Soc. de Chimie biol.* T. 7, p. 75. Paris. 1925.

Goldschmidt. — Der chromidialapparat Hebhaft funktinierender Gewbszellen. *Zool. Iahrbücker Abt. für Anat.* Bd. 21. 1904.

Goris. — Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tanins végétaux. Paris. 1903.

Graffe (V.). — Studien über das Anthocyane. *Sitzungsber. der Kaiser. Akad. den Wissenschaften in Wien.* 1906 et 1908.

Grandsire (A). — Les mitochondries chez les végétaux. *Rev. des Questions scient.* 4e Série, p. 471. Louvain. 1922.

Gray (G.-V.) et Ryan (H.). — Diminution d'acidité dans les organes causée par certaines pulvérisations. *Monthly Bull. Of. The Departement of Agriculture. State of California chemisty.* Number vol. 10, p. 11. Sacramento 1921.

Groom (P.). — The aleurone layer of the seeds of grasses. *Ann. Bot.* Vol. 7, p. 387. 1893.

Guérithault (B.). — Sur la présence du cuivre dans les plantes et particulièrement dans les matières alimentaires d'origine végétale. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 171, p. 176. Paris. 1920.

— Présence du cuivre dans les végétaux. *Bull. des Sciences pharmacologiques.* Novembre 1911.

Gustafson (F.-G.). — Hydrogen-ion, concentration gradient in plants. *Amer. Journ. of. Botan.* T. 11, p. 1. 1924.

Guillermond (A.). — Recherches cytologiques sur les levures et quelques champignons à formes levures. *Thèse de Doctorat ès-sciences de la Sorbonne. Résumé dans la Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1903.

— Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées. *Rev. Gén. de Bot.* 18. Paris. 1906.

Guillermond (A.). — Remarques critiques sur différentes publications parues récemment sur la cytologie des levures et quelques observations nouvelles sur la structure des champignons. *Centrale für Baktériologie.* Bd. 26. 1910.
— Nouvelles observations observations sur la cytologie des levures. *C. A. Acad. des Sciences.* Paris. 1910.
— A propos des corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. *Arch. für Protistenkunde.* 1910.
— Sur les mitochondries de la cellule végétale. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1911.
— Recherches sur le mode de formation de l'amidon et sur l'origine des plastes des végétaux (leuco-chloro et chromoplastes). Contribution à l'étude des mitochondries chez les végétaux. *Archives d'Anatomie microscopique.* T. 14. 1912.
— Recherche sur l'origine des plastes chloro, amylo et chromoplastes et sur le mode de formation de l'amidon. Contribution à l'étude des mitochondries de la cellule végétale. *Arch. d'Anat. mic.* T. 14. 1912.
— Sur les mitochondries des champignons. *C. R. Soc. de Biologie.* Paris. 1913.
— Nouvelles observations sur le chondriome des champignons. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1913.
— Sur le rôle du chondriome dans l'élaboration des produits de réserve des champignons. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1913.
— Sur la participation du chondriome des champignons dans l'élaboration des corpuscules métachromatiques. *Anat. Anzeiger.* Bd. 44. 1913.
— Nouvelles observations sur le chondriome de l'asque du « Postularia vesiculosa ». Evolution du chondriome pendant les mitoses et la formation des spores. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1913.
— Sur la signification du chromatophore des Algues. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1913.
— Recherches cytologiques sur le mode de formation des pigments anthocyaniques. Seconde contribution à l'étude des mitochondries. *Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1913.
— Sur l'étude vitale du chondriome dans les cellules épeidermiques de la fleur d'iris Germanica. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1913.
— Etat actuel de la question de l'évolution et du rôle physiologique des mitochondries, d'après les travaux récents de cytologie végétale. *Rev. Gén. de Bot.* T. 26. Paris. 1914.
— Recherches cytologiques sur la signification des pigments anthocyaniques. Nouvelle contribution à l'étude des mitochondries. *Rev. Gén. de Bot.* T. 25 *bis.* Paris. 1914.
— Bemerkungn über die Mitochondrien des vegetativen zellen und ihre verwandlung in Platiden. Eine Antworth auf einige Emwürfe. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 32. 1914.

Guillermond (A.). — Recherches sur le chondriome des champignons et des algues. *Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1915.
— Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'Iris Germanica. Production de globules graisseux au sein des mitochondries et des plastes. Fixation du chondriome. *C .R. Soc. de Biol.* Paris. 1915.
— Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'Iris Germanica. Elaboration d'amidon et de xanthophylle au sein des chondriochontes. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1915.
— Sur une méthode nouvelle permettant la coloration des grains d'amidon au sein des mitochondries. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1916.
— Recherches sur l'origine des chromoplastes et le mode de formation xantophylles et des carotines. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1917.
— Observation vitale sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur de Tulipe. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1917.
— Contribution à l'étude de la fixation du cytoplasma. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1917.
— Nouvelles recherches sur les caractères vitaux et sur les altérations du chondriome dans les cellules épidermiques des fleurs. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1917.
— Sur les processus de dégénérescence du chondriome dans les cellules épidermiques des fleurs, pendant la fanaison. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1917.
— Sur la plasmolyse des cellules épidermiques de la feuille d'Iris Germanica. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1918.
— Sur la nature et la signification du chondriome dans la cellule végétale. Réponse à quelques objections. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris 1918.
— Sur le chondriome des champignons. A propos de travaux récents de M. Dangeard. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1918.
— Sur la plasmolyse des cellules épidermiques des pétales et de la fleur de Tulipe. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1918.
— Sur la signification du chondriome. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1918.
— Mitochondries et système vacuolaire. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1918.
— Sur la métachromatine et les corpuscules phénoliques de la cellule végétale. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1918.
— Sur la signification du chondriome. *Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1918.
— Observations vitales sur le chondriome des végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophyliens et catoriniens. Contribution à l'étude physiologique de la cellule. *Rev. Gén. de Bot.* Paris 1919.

Guillermond (A.). — Nouvelles recherches sur l'appareil vacuolaire chez les végétaux. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 171. Paris. 1920.
— Sur l'origine des vacuoles dans les cellules de quelques racines. *C. R. Soc. de Biol.* T. 83. Paris. 1920.
— A propos de la métachromatine. *C. R. Soc. de Biol.* T. 83. Paris. 1920.
— Les constituants morphologiques du cytoplasme d'après les recherches récentes en cytologie végétale. *Bull. Scient. Fr. et Belge.* T. 54. 1921.
— Origine et évolution des vacuoles dans les cellules végétales et grains d'aleurone. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1921.
— La constitution morphologique du cytoplasma dans la cellule végétale. *Rev. Gén. de Sci.,* P. 133. Paris. 1921.
— Sur les éléments figurés du cytoplasma chez les végétaux; chondriome, appareil vacuolaire et granulation lipoïde. *Arch. Biol.* T. 31. 1921.
— A propos de l'origine de l'anthocyane. *C. R. Soc. de Biol.* T. 85. Paris. 1921.
— Remarques sur la cytologie de l'albumen du ricin; origine et évolution des grains d'aleurone. *C. R. Assoc. française p. l'Aven. des Sci.* Rouen. 1921.
Haberland. — Ueber fibrillare Plasmastrukturen. *Ber. der Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 19. 1901.
Harper (R.-A.). — The structure of protoplasma. *Amm. Journ. Bot.* T. 6, p. 273. 1919.
Haas (A.-R.-C.). — Réaction de la sève des plantes. *Soc. Sciences.* Vol. 9, p. 341. Baltimore. 1920.
Hanstein. — Das protoplasma als Trager der pflanzlichen und thierschen Lebensverrichtungen. *Heildeberg.* 1888.
Hamberland. — Traité d'anatomie physiologique végétale.
Heidenhain. — Plasma und zelle. *Imp. Fischer.* Yena. 1911.
Heald (F.-N.). — On the toxic effect of dilute solutions of acids and salts upon plants. *Bot. Gaz.* T. 22. p. 125. 1896.
Heilbrunn (L.-V.). — Protoplasmic viscosity changes aluring mitosis. *Jour. Exp. Zool.* T. 34, p. 417. 1921.
— The colloïd chemistry of protoplasma. *Coloïd. Symp. Mon.* T. 3, p. 135. 1925.
— The physical structure of the protoplasma of seaurchin eggs. *Amer. Nat.* T. 60, p. 143. 1926.
Henneguy (F.-L.). — Leçon sur la cellule. *Paris.* 1896.
— Colorabilité du protoplasma vivant. *Interm. des Biolog.* T. I, p. 198.
— La vie cellulaire. *Collection Fayot.* Paris. 1923.
Heron (G.). — Bouillies acides et bouillies alcalines. *Le Progrès agric. et vit.* 34e année, t. 67, p. 228. Montpellier, 1917.
Himmel. — Le rouge neutre, son rôle dans l'étude de la phagocytose en général. *Ann. Inst. Pasteur.* T. 16, p. 663.
Hoagland (D.-R.). — Influence des sels sur l'absorption des

substances minérales par les plantes. *Technical Paper.* 26 pages, plus 7 tableaux, plus 2 figures. Berkeley. Cal. 1924.

Jacobs (M.-H.). — Permeability of the cell. to diffusing substances. *Cowdry's General cytology.* P. 99. Chicago. 1924.

Janse. — Die Bewegungen der Protoplasma von « Caulerpa prolifera » *Iakrbücher für wiss. Bot.* 1899.

Janssens (van der Pute) et Helsmortel. — Le chondriosome dans les champignons. *La cellule.* 15 avril 1913.

Johnson (Y.-C.). — Influence du traitement anticryptogamique sur la germination des graines de céréales. *Journ. of the Board of Agri.* Vol. 20, n° 2, p. 120. London 1913.

Jonesco (St). — Formation de l'anthocyane dans les fleurs de « Cobaea scandens » aux dépens des glucosides préexistantes. *C. R. Acad. des Sciences.* P. 549. Paris. 1911.

Jungelson (A.). — Sur les épis anormaux de maïs obtenus à la suite de traitement cuivrique de la semence. *Rev. Gén. de Bot.* T. 29, p. 244.

— *Thèse de Doctorat.* Nancy. 1916.

Jungmann (W.). — Physiologische-anatomische Untersuchungen über die Einwirkung von Blausaure auf pflanzen. *Ber. Deutsch Bot Gen.* Bd. 39, p. 84. 1921.

Kahlenberg (Louis) and Rodney H. True. — On the toxic action of dissolwed salts an théir électrolytic dissociation. *The Botanical gazette.* Vol. 12, n° 2. 1896.

Kahho (H.). — Zur kenntnis der Neutral. *Salzwirkungen auf dem Pflanzenplasma.* II.

Keller (Ida). — Uber Protoplasma Stroning in Pflanzenreich. *Zurich.* 1890.

Kite (G.-L.). — Studies of the permeability of the internal cytoplasma of animal and plant cells. *Amer. Journ. Physiol.* T. 37, p. 282. 1915.

Klebbs (G.). — Beitrage zur Physiologie der Pflanzenzell. *Untersuchungen Bot. nat.* Tübingen 1888.

— Einige Bemerkungen über die Arbeit von Went. *Bot. Zeit.* P. 549. 1890.

Klemm. — Désorganisatione zschmeinung der Zelle. *Jahrb. f. Wiss. Bot.* 1895.

Klerker. — Ueber Gerbstoffvakuolen. *Bihangtill K. Svenska Vet. Ak. Handl.* Bd. 13. 1888.

Kohl. — Protoplasmaverbindungen bei Algen. *Ber. der. Deutsch Bot. Gessel.* 1898.

— Die Hefepilze. *Leipzig.* 1907.

Koucharenko (J.-A.). — Nouvelle théorie des solutions. *Rev. Int. de R. Agric.* Jan. Mars 1925, n° 1. p. 1. Roma.

Konsuloff. — Stimulation de la cellule et son explication. *Ann. de l'Université de Sofia.* T. 22. 1926.

Kunstler. — De la constitution du protoplasma. *Bull. Scient. du Nord.* 1882.

Kuntsler et Ginest. — Les sphérules trophoplasmatiques des Infusoires. *Acad. des Sciences.* Paris. 1905.

Kursanow. — Ueber Befruchtung, Reifung und Keinung bei Zygnema. *Flora.* 1911.

Kuster. — Zelle und Zellteilung. *Handwortesbuch der Naturwisenchaften.* 1914.

Laguesse et Debeyre. — Sur les formes des chondriosomes dans quelques glandes salivaires par le vert janus. *C. R. Soc. des Biol.* Paris. 1912.

Laguesse (E.). — Méthode de coloration vitale des chondriosomes par le vert janus. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1912.

— Sur le sort des chondriosomes après l'élaboration des grains de secrétion. *Bull. d'Hist. appli.* T. I[er], p. 1. 1924.

Lapicque (L.). — Sur l'absorption des sels par la cellule végétale. *Bull. de la Soc. Chim. Biol.* T. 7, p. 621. Juin 1925. Paris.

— Sur les Spirogyres. *C. R. Soc. Biol.* Paris. 1922.

Laurient (J.). — Quelques facteurs déterminant la structure des plantes. *Rev. Gén. de Bot.* P. 129. Paris. 1907.

Lauterborn (R.). — Untersuchung ueber Bau. Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. *Leipzig.* 1 vol, 165 p., plus 10 pl.

Le Touzé. — Contribution à l'étude hystologique des Fucacées. *Rev. Gén. de Bot.* 1911.

Levi (G.). — Sulla presenta partecipazione dei chondriosomi alla differenziatione cellulare. *Arch. d'anatomie di Embriologie.* 1911.

— La constitutione del Protoplasma studiata su cellule viventi coltivate in « vitro ». *Dall' Inst. Anatomico di Palerma Archivio di Fisiologia.* 1916.

Lewiss (M.-R. et W.-A.). — Mitochondria and other cytoplasmic structures in tissue cultures. *The. Amer. Jour. of. anatomy.* 1915.

Lewitsky (G.). — Ueber die chondriosomen in pflanzlichen Zellen. *Ber. d. Deutsch Bot. Ges.* Bd. 28. Heft 10. 1911.

— Die chloroplastenanlagen in lebenden und fixierten zellen von « *Elodea Canadensis* ». *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 29. 1912.

— Vergliechende Untersuchung über die chondriosomen in lebenden und fixierten Pflanzenzellen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 29. 1912.

— Die chondriosomen als Sekretbildner bei den Piltzen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 31. 1913.

Li Kone Tchang. — Sur quelques particularités de l'évolution des plastes pendant la germination des grains des légumineuses. *C. R. Soc. Biol.* T. 89. Lyon. 1923.

Li Sihon Houa. — Perméabilité sélective des membranes polarisées. *Ann. de Phys.* T. 17, p. 475. 1922.

Liberi (G.). et Cusmano (A.). — Sur la présence du cuivre dans les fruits et dans les conserves de tomate. *Annolli de la R. stat. chimico-agrario experimentali di Roma.* Vol 8, p. 185. Roma. 1916.

Lipman (G.-B.) et Burges (P.-S.). — L'action des sels de cuivre Zn. Pb. sur l'ammonification et nitrification dans le sol. *University of. California Publications in Agri. Sci.* Vol. 1, p. 129. 1914.

Lipman (G.-B.) et Gericke (W.-F.). — Sur l'action antagonique du cuivre et du Zn. vis-à-vis des sels alcalins dans le sol. *Amer. Journ. of. Bot.* Vol. 5, p. 151. Lancester. 1916.

Loeb. — La Dynamique des phénomènes de la vie. *Alcan.* Paris. 1908.

Lowschin (A.-M.). — Vergleichende experimental cytologische Untersuchungen über mitochondrien in Blattern der hoherne Pflanzen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 32. 1914.

— Zur Frage über die Bildung d. Anthocyane in Blattern d. Rose. *Ber. der. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 32, p. 386. 1914.

Luna. — Richerche sulla biologica dei condriosomi. *Arch. f. Zellforschung.*

Mac Dougal (D.-T.) and Spoehr (H.-A.). — The camponent and colloïdal behavior of plan protoplasma. *Proc. Amer. Phil. Soc.* T. 69, p. 150. 1920.

Mackie (W.-W.). — La bouillie sulfo-calcique dans la lutte contre « la carie » du blé et du « charbon » de l'orge. *Science.* Vol. 48, n° 1247. p. 515. Lancaster. 1918.

Maige (A.) et Nicolas (G.). — Recherches sur l'influence des variations de la turgescence sur la respiration de la cellule. *Rev. Gén. de Bot.* T. 22, p. 409. Paris.

Maige (A.). — Variations du noyau pendant la digestion de l'amidon à diverses températures chez le haricot. *C. R. Soc. de Biol.* P. 1149. Lille. 1923.

— Variation du seuil de condensation amylogène des plastes dans l'hypocotyle du haricot. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 178. p. 863. Paris. 1924.

— Variations du seuil de condensation amylogène avec la turgescence de la cellule. *C. R. Soc. Biol.* T. 40, p. 1415. Lille. 1924.

— Les différents stades de la condensation amylogène. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 128, p. 1908. Paris. 1924.

Maire (R.). — Recherches cytologiques sur les Basidiomycetes. *Thèse de Doctorat. Sorbonne.* Paris. 1902.

— Recherches cytologiques sur quelques Ascomycetes. *Annales micologici.* 1905.

Mangenot (G.). — Recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasma des algues. *Thèse Sorbonne.* Paris. 1922.

Mann. — Définition, structure et composition du protoplasma. *X^e Congrès Intern. Médicin.* Lisbonne. 1903.

Maquenne (L.) et Demoussy (E.). — Sur une réaction très sensible du cuivre. Application à l'analyse des cendres et des terres arables. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 168, p. 489. Paris. 1919.

MAQUENNE (L.) et DEMOUSSY (E.). — Sur la richesse en cuivre des terres cultivées. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 169, p. 938. Paris. 1919.

— Action catalitique des sels de cuivre sur l'oxydation à l'aide des composés ferreux. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 171, p. 65. Paris. 1920.

— Le cuivre dans la terre et les plantes. *Bull. Soc. Chim.* P. 226. Paris. 1920, et dans *l'Industrie chimique.* P. 243. 1920.

MAQUENNE (L.). — Remarques sur le sulfatage des graines de semence. *C. R. Acad. Agric.* P. 852. Paris. 1924.

MATRUCHOT. — Sur une structure particulière du protoplasma chez une « Mucorinée » et sur une propriété générale des pigments bactériens et fongiques. *Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1900.

— Sur une structure particulière du protoplasma. *Rev. Gén. de Biol.* Paris. 1900.

— Variation de structure dans les algues inférieurs. *Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1902.

MATRUCHOT et MOLLIARD (M.). — Variation de structure d'une algue verte sous l'influence du milieu nutritif. *Rev. Gén. de Bot.* T. 40, pp. 114, 254 et 316. Paris. 1902.

— Action du gel sur les cellules végétales. *Rev. Gén. de Bot.* Paris. 1902.

MASSART. — Coloration vitale des bactéries. *Recueil de l'Inst. Bot.* Bruxelles. 1902.

MAXIMOW. — Sur les chondriosomes des cellules vivantes des plantes. *Anat. Anzeiger.* 1912.

— Sur les méthodes de fixation et de coloration des chondriosomes. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1916.

MAYER (Arthur). — Orientirende Untersuchungen über Verbreitung Morphologie und chimie des volutins. *Botanische Zeitung.* 1904.

MAYER (A.), et SCHAFFER. — Sur la structure des gels. Application à l'étude de la constitution du protoplasma et des liquides de l'organisme. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1908.

— Une hypothèse de travail sur le rôle physiologique des mitochondries. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1913.

MAYER (A.), RATHERY et SCHAFFER. — Action des fixateurs chromo-osmiques sur les lipoïdes des tissus. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1912.

MAZÉ (F.). — Recherches de Physiologie végétale, II, Mémoire. *Ann. Inst. Pasteur.* T. 27, p. 615. Paris. 1913.

— Recherches de Physiologie végétale. *Ann. Inst. Pasteur.* T. 27, p. 1093. Paris. 1913.

— Recherches de Physiologie végétale. *Ann. Inst. Pasteur.* T. 28, p. 48. Paris. 1914.

MCALLISTER. — The pyrenoïde of Anthoceros. *American Journal of Botany.* 1914.

MEVES (Fr.). — Ueber das Vorkommen von Mitochondrien in Pflanzenzellen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 1904.

MEVES (Fr.). — Die chondriosomen als Troger erblicher anlagen Cytologische studien am Hühnembryo. *Arch. f. Mikr. Anat.* Bd. 72. 1908.
— Die chloroplasten bildung bei den hoheren Pflanzen und die Allinante von A. Meyer. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 1916.
— Historische-Kritische Untersuchungen über die Plastosomen in Pflanzenzellen. *Arch. f. Mikr. Anat.* Bd. 89. 1917.
— Ueber Umwandlung von Plastosomen in Sekretkungelchen nach Beobactung an Pflanzenzellen. *Arch. f. Mikr. Anat.* Bd. 90. 1918.
MEYER (A.). — Das Chlorophyllkorn in chimischer, morphologischer und biologischer Beziehung. *Leipzig.* 1883.
— Orientirende Untersuchungen über Verbreitung Morphologie und chimie des volutins. *Botanische Zeitung.* 1904.
— Bemerkungen zu G. Lewitsky über die chondriosomen in pflanzenlichen zellen. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 1911.
— Die Allinante zugleich eine Anworth auf die Darstellung von Guillermond. *Ber d. Deutsch. Bot. Ges.* 1916.
MICHAELIS (C.). — Die vital Farbung; ein Darstellungsmethode den zellgranula. *Arch. für Mik. Anat.* 1899.
MICHAELIS (L). — General principles of the effect. of ions in colloïd. *Colloïd. Symph. Mon.* T. 2, pp. 1-15. 1924.
MILLIARDET. — Sur une matière colorante nouvelle découverte dans la tomate. 1876.
MIRANDE (Marcel). — Obeservations sur la mode de formation cytologique de l'anthocyane. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1916.
MIRANDE (E.). — Sur la formation cytologique de l'amidon et de l'huile dans l'oogone des Chara. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1919.
— Sur le chondriome, les chloroplastes et les corpuscules nucléolaires du protoplasma des Chara. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1919.
— Sur la relation existant entre l'anthocyanine et les oxydases *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1922.
MIKOSCH. — Ueber die Enstehung der Chlorophylkorner. *Sitzb. d. Kais. Akad. d. Wiss.* Wien. 1885.
MOELLENDORF (Wilhem von). — Zur morphologie der vitalen Granulafarbung. *Arch. für Mikr. Anat.* 1918.
MOLISCH. — Untersuchungen über Erfrieren der Pflanzen. *Iena.* 1897.
— Ueber amorphes und cristallisirtes Anthocyaniques. *Bot. Zeit.* P. 162. 1905.
MOLLIARD (M.). — Influence des sels de cuivre sur le rendement de « Sterigmatocystis nigra ». *C. R. Acad. des Sciences.* T. 175, p. 838. Paris. 1922.
MONTEMARTINI (L.). — Nouvelles observations concernant l'action excitante du sulfate de cuivre sur les plantes. *Revista di Patologia vegetale.* Vol. 10, p. 36. Pavio. 1920.

Monteverde et Lubimenko. — Sur la formation de la chlorophylle chez les plantes. *Bull. de l'Acad. des Sciences de Saint-Pétersbourg.* 1913.

Moreau (Mme F.). — Les corpuscules métachromatiques des Algues. *Bull. Soc. Biol. de France.* Paris. 1913.

— Le chondriome des Uridinées. *C. R. Soc. de Biol.* T. 77. Paris. 1914.

— Le chondriome et la division des mitochondries chez les Vaucharia. *Bull. Soc. Biol. de France.* T. 61. Paris. 1919.

Moreau (F.). — Recherches sur la reproduction des Mucorinées et des quelques Tallophytes. *Thèse de Doctorat ès-Sciences de la Sorbonne.* Paris. 1913.

— Sur la formation des corpuscules métachromatiques dans les mitochondries granuleuses. *C. R. Soc. de Biol.* T. 77. Paris. 1914.

— L'origine et la transformation des pigments anthocyaniques. *Bull. Soc. Bot. de France.* 1914.

— Sur l'origine de l'anthocyane dans les divers organes des végétaux. *Bull. Soc. Biol.* Paris. 1914.

— Sur la nature de la métachromasie. *Bull. Soc. Bot. de France.* 1916.

— Sur l'origine mitochondriale de la lycopine. *Bull. Soc. Bot. de France.* 1916.

Mottier (David-M.). — Platisdes. *Acad. of. Sci.* Proceedings. 1918.

— Chondriosomes and the primordia of chloroplaste and leucoplastes. *Ann. of Bot.* P. 94. 1918.

— On certain plastids, with special referance to the protein bodies of zea, ricinus and conopholis. *Ann. of. Botan.* July 1921.

Nageotte. — L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie. *Alcan.* Paris. 1922.

Nageli et Schwendener. — Das Mikroscop. *Leiuzig.* 1877.

Nageli. — Pflanzenphysiologie Untersuchungen. 1858.

Nicolas (G.). — Contribution à l'étude de l'action fertilisante du soufre. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 172, p. 85. Paris. 1921.

— Action du soufre sur les végétaux. *Bull. Soc. Hist. nat.* Toulouse. T. 49, p. 362. 1921.

Nicolle. — Les colorations vitales des microbes. *Bull. Inst. Pasteur.* P. 137. Paris. 1903.

Nicols (S.-P.). — The effect of wounds upon the rotation of the protoplasm in the internods of « Nitella ». *Bull. Torrey Bot. Club.* T. 52, p. 351. 1925.

Nicolsi-Roncati. — Genesi dei cromatophori nelle Fucoïdée. *Bull. Soc. Bot. Ital.* 1912.

Noack (K.-L.). — Recherches sur l'individualité des plastides chez les Phanerogames. *Zeitschr. f. Bot.* Bd. 13, p. 1. 1921.

Numec (B.). — Ueber Ausgabe Ungeloster Korper in hautmuchatiten Zellen. *Sitz. bom. Ges.* Wien. 1899.

Numec (B.). — Ueber experementellerziette Neubildung von Vakuolen im Haut umkleideten zellen. *Sitzber der Kon. Bohm. Gesell. des Wiss.* In Prag. 1900.
— Das problem der Befruchtagsvagange und andere zytologische fragen. *Berlin.* 1903.
— Sur la néoformation expérimentale de vacuoles dans les cellules entourées d'une membrane. *Sitz. der Kais. Akad.* Wien. 1906.
Orman. — Recherches sur les différenciations cytoplasmiques (ergatoplasme et chondriosomes) dans les végétaux. *La Cellule.* T. 28. 1912.
Osterhaut (W.-Y.-V.). — Jnjury. récovery, and death in relation to conductivity and permeability. *Philadelphie.* 1922.
Ostwald. — Théorie de l'assimilation chlorophyllienne. *Kolloid. Ztsch.* Bd. 33, p. 356. 1923.
Overton (E.). — Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch lebenden zellen. *Iahr. f. Wiss. Bot.* Bd. 34, p. 669. 1900.

Palladine (W.) et Komleff (Mlle A.). — L'influence de la concentration des solutions sur l'énergie respiratoire et sur la transformation des substances dans les plantes. *Rev. Gén. de Bot.* T. 14, p. 497. Paris.
Paturel (G.). — Les traitements cupriques et la nitrification du sol. *Le Progrès Agric. et Vit.* 30e année, n° 23, p. 711. Montpellier. 8 juin 1913.
Patrick (W.-A.). — Colloidal chemistry. Taylor's a treatise on physical chemistry. *The New. Phyt.* P. 303. New-York. 1925.
Perrin (J.). — Mécanisme de l'électrification de contact en solu-
— tions colloïdales. *Journ. Chim. Phys.* T. 2, p. 601. Paris. 1904.
— Suit. *Journ. Chim. Phys.* T. 3, p. 50. Paris. 1905.
— Osmose. Parois semi-perméables. *Rapport présenté au Cong. Intern. de Physic.* T. 1, p. 531. Paris. 1900.
Pensa. — Osservazione del morphologica e biologie cellulare nei végétali. *Arch. für Zells forschung.* 1913.
— Condriosimi e pigmento anthocyanico nelle cellule vegetali. *Anatomischer Angeiger.* 1913.
— Ancora proposito di condriosomi e pigmento anthocyanimo nelle cellule végétali. *Anat. Anzeiger.* 1913.
— Fatti e consideraziani a proposito di alcune formazioni endocellulari dei végétali. *Mémoire dei R. Inst. Lombardo de Scienze e lettere.* 1917.
Pfeffer (W.). — Untersuchungen über die Proteikorner und die Bedeutung des Aspargins beim Keimen der Samen. *Iahb. f. Wiss. Bot.* Bd. 8. 1872.
— Ueber die Aufnahme der Anilinfarben in lebende Zellen. *Unters. Bot. Inst. Tubingen.* Bd., p. 179. 1882.
— Zur Kentnis der Plasmahaut und der Vaculen nebst Bemer-

kungen über Aggregatzustend der Protoplasma und über osmitische vorgange. *Abhandlungen der math. phys. classe der Konigel Sachsichen Gesell.* Der Wissench. 1890.

Pfeffer (W.). — Physiologie végétale. Trad. en Fran. par J. Fridel. Paris. *Steinheil.* 1906.

Piaux (L.). — Catalyse par le cuivre de l'urate cuivreux. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 179, p. 901. Paris. 1924.

Pénau (H.). — Recherches cytologiques sur quelques microorganismes. *Rev. Gén. de Bot.* 1912.

Policard. — Sur la structure des mitochondries. *C. R. Soc. Biol.* Paris. 1909.

— Sensibilité des mitochondries à la chaleur. *C. R. Soc. Biol.* Paris. 1912.

Politis (J.). — Sopra speciali corpi cellulare che formato antocianine. *Atti. dell. Inst. Botanico della R. Universita di Pavia.* 1911.

— Sur l'origine mitochondriale des pigments anthocyaniques dans les fruits. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 172, p. 1.061. Paris. 1921

— Du rôle du chondriome dans la formation des essences dans les plantes *C. R. Acad. des Sciences.* T. 173. Paris. 1921.

Ponomarew. — Zur Kenntn. des chloroplastenbanes. *Ber. d. Deutsch. Bot. Gessel.* 1914.

Popoff (M.). — La stimulation des fonctions cellulaires, leur signification téoretique et agricole. *Annuaire Univ. de Sofia.* 2 fasc. physico-mat., p. 51. 1922-1923.

— Ueber Zellstimulation und ihre theoretische Begrundung. *Ann. de l'Univ. de Sofia.* T. 19. 1923.

— Biologische Moglichkeiten zur Hebung des Krunteertrages. *Bilogische Zentralblat.* Bd. 43. 1923.

— Sur l'augmentation de la production agricole par la stimulation des semences. *Journ. de physiol. et de pathologie végétale.* P. 32. 1923.

Porcet. — Action des sels de cuivre sur la végétation. *Lausanne.* 1904.

Prenant. — Les mitochondries de l'ergatoplasme. *Journ. de l'anat. et de Physiologie.*

— L'origine mitochondriale des pigments. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1913.

Priestley (I.-H.) and North (Edith). — The structure of the endodermis in relation to its function. *The New. Phytt.*

Priestley (I.-H.). — Further observations upon the mecanism of roth pressure. *The New. Phyt.* T. 21, p. 41. 1922.

Priestley (I.-H.) and Lwing (J.). — Etiolation. *The New Pyto.* T. 21, pp. 58, 62, 113, 210, 252. 1922. — T. 22, p. 30. 1923.

Pringsheim — Untersuch über Linchtwirkung und Chlorophyllfunction. *Leipzig.* 1862.

Ratzius. — Was ind die Plastosomen. *Arch. für Mikr.* Anat. Bd. 34. 1914.

Regaud. — Attribution aux formations mitochondrides de la fonction générale d'extraction et de fixation élective exercée par les cellules vivantes sur les substances dissoutes dans le milieu ambiant. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1909.

— Les mitochondries considérées comme les agents de la fonction éclectique et pharmacopéïque des cellules. *Rev. de Méd.* Paris. 1911.

Regaud et Policart. — Sur la signification de la rétention du chrome et technique histologique au point de vue des lipoïdes et des mitochondries. *C. R. Soc. Biol.* Paris. 1913.

Rendler (A.-B.). — On the developement of aleurone grains in the Lupin. *Ann. of. Botany.* Vol. 2, p. 167. 1888.

Robbins (W.-J.). — Cultivation of excised root tips and stemtips under sterile condition. *Bot. Gazette.* T. 73, p. 376. 1922.

Robertson (J.-T.-B.). — Physical properties of Proteins. *London.* 1920.

Rignano (E.). — La mémoire biologique. *Flammarion.* Paris. 1923.

Romanoff (B.). — Coloration vitale des microphytes. *Bull. Soc. Imp. Natur.* P. 581. Moscou. 1902.

Roberts (E.-A.). — The epidermal cells. of. roots. *Bot. Gazet.* T. 62, p. 488. 1916.

Romieu. — Sur les mouvements intercytoplasmiques des mitochondries. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1911.

Ronge. — Premiers produits de l'assimilation chlorophyllienne. *Journ. Suisse de Phar.* T. 59, n°s 11 et 12.

Ravez (L.) et Verger (G.). — Sur la germination de zoospores du mildiou de la vigne. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 175, p. 1421. Paris. 1921.

Rudolph. — Condriosomen und chromatophoren. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 1920.

Ruhland. — Beitrage zur kenntnis der permeabilitat der plasmahaut. *Jahbr. f. Wiss. Bot.* Heft1, p. 1. 1908.

Ruth (W.-A.). — The effect of Bordeaux mixture upon the chlorophylle content of the primordial leaves of the common bean « Phaseolus vulgaris ». *Amer. Journ. of. Bot.* T. 9, p. 535. 1922.

Sachs. — Ueber das Auftreten der Starke bei der Keimmung Olhartiger Samen. *Bot. Zeit.* 1859.

Sapehin. — Untersuchungen über die Individualitat der Plastide. *Ber. der. Deutsch. Bot. Ges.* 1913.

Sauvageau (C.). — Sur le mouvement propre des chromatophores. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1917.

— Sur la membrane de quelques algues floridées et sur la gélation de l'hydrosol gélosique. *C. R. Acad. des Sciences.* Paris. 1917.

Savastano (L.). — La bouillie sulfo-calcique en remplacement de la bouillie cupro-calcique contre quelques champignons para-

sites des arbres cultivées. *Stazione speri. di Agric. et Fruti. Bollettino.* 22, p. 14. Acireale. 1916.

Scarth (G.-W.). — Colloïdal changes associated With protoplasmic contraction. *Quart. Jour. Exp. Physiol.* Vol. 14, p. 99. 1924.

Scherrer. — Die chromatopforen und chondriosomen in Anthoceros. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* 1913.

Schimper (W.). — Ueber du Entwickelung der chlorophyllenkorner und Farbkorper. *Bot. Zeitung.* 1883.

— Untersuch über die chlorophyllkorper und die ihnen homologen. *Gebilde. Jahrb. f. Wiss. Bot.* 1885.

Scharp (L.-W.). — An introduction to the Cytology. *New-York.* 1921.

Schmidt (E.-W.). — Neuere Arbeiten über pflanzliche Mitochondrien. *Zeitschrift. Bot. et Progressus rei Botanicæ.* 1902.

Schmitz (F.). — Die chromatophoren des Algen. Bonne. 1882. II^e^ publication dans *Jahrb. f. Wiss. Bot.* Bd. 15. 1884.

Schneider. — Plamastruktur und Bewegung bei Protozoen und Pflanzenzellen. *Arbetein aus der Zologischen Inst. der Universit.* Vienne 1906.

Schwartz. (F.). — Die morph. und chimie Zusammensch. des protoplasma. *Beitrage zur Biologie der pflanzen.* 1887.

Seifriz (W.). — Observations on the structure of protoplasme by Aid of microdissection. *Biological Bull.* T. 34. 1918.

— A method for inducing protoplasmic straening.*The New. Phyt.* T. 21, p. 190. 1922.

— Réaction of protoplasma to salts and antagonistic action of salts and alcool. *Bot. Gaz.* T. 76, p. 389. 1923.

— Viscosity valnes of protoplasma as determined by microdissection. *Bot. Gaz.* T. 70, p. 360. 1920.

— Phase reversal in protoplasma and emulsions. *Science.* N° 57, p. 694. 1923.

Schutzenberger (F.). — Sur la structure réelle des matières albuminoïdes.*Dictionnaire de Wurtz.* 1^re^ suppli, p. 54.

Sicard (L.). — Etude de la composition et de la préparation de la bouillie bordelaise. *Ann. de l'Ecole Nat. de Montpellier.* Nouvelle série. T. 14, p. 213. 1925.

Schribeau (E.). — La dissection artificielle. *Journ. de l'Agric.* T. 2, p. 536. 1894.

Stiles (W.). — Rapport entre la concentration des solutions nutritives et la rapidité de développement des plantes en solutions aqueuses. *Annals. of. Botany.* Vol. 29, p. 89. Londres 1915.

— Permeability.

I. Introduction.

II. The system involved. *New. Phytologist.* T. 20, p. 45. 1921

III. Surface phenomena. *Ibid.* P. 93.

IV. Diffusion. *Ibid.* P. 137.

V. The permeability of membranes. *Ibid.* P. 185.

VI. Osmatic pressure. *New Phytologist.* T. 21, p. 1. 1923.
VII. The cell. vall. *Ibid.* P. 49.
VIII. The plasma membrane. *Ibid.* P. 140.
IX. The water relations of the plant cell. *Ibid.* P. 169.
X. The influence of external conditions on the intake and excretion of water by plant cells and tissues. *Ibid.* P. 223.

STILES (W.). — Permeability. *The New. Phyt.* T. 22. 1923.
— Pearmeability. Peprint. *New. Phyt.* London. 1924.
STRASBURGER. — Ueber cytoplasmastrukturen. *Jahrb. f. Wiss. Bot.* 1897.
— Die Pflanzlichen zellhaüte. *Prinzscheim Jahrb.* Bd. 31.
SWELLENGREBEL. — La volutine des Trypanosomes. *C. R. Soc. de Biol.* Paris. 1908.
VAN RYSSELBERGHE (F.). — L'influence de la température sur la perméabilité du protoplasma vivant, par l'eau et les substances dissoutes. *Rec. de l'Inst. Bot. de Bruxelles.* T. 5, p. 209. 1901.
VAN TIEGHEM (Ph.) — Hydroleucites et grains d'aleuron. *Journ. de Bot.* 1888.
— Traité de Botanique.
VERMOREL et DANTONY. — Pour rendre mouillantes les bouillies anticryptogamiques employées en viticulture. *C. R. Hebdomadaires des Sci. de l'Acad. des Sciences.* T. 156, p. 1.475. Paris. 1913.
— Sur la composition des bouillies bordelaises alcalines et sur le cuivre soluble qu'elles renferment. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 159, p. 266. Paris. 1914.
— Efficacité comparée des bouillies bordelaises ordinaires et des bouillies bordelaises caséinées pour la préservation des grappes. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 159, p. 439. Paris. 1919.
— Les bouillies sulfo-calciques. *C. R. Acad. de l'Agric. de France.* T. 159, p. 161. Paris. 1919.
VERMOREL. — Le verdissage des semences de céréales. *C. R. de l'Acad. d'Agric.* P. 799. Paris. 1924.
VILLEDIEU. — De la non toxicité du cuivre pour le mildiou. *C. R. Acad. des Sciences.* T. 172, p. 332. Paris. 1921.
— Comment agissent les bouillies bordelaises alcalines. *C. R. des Scé. de l'Agric. de France.* P. 896. Paris. 1924.
VILLEDIEU, VIALA, SAGNIER et GERVAIS. — Le rôle du cuivre dans les bouillies anticryptogamiques. *C. R. des Sci. de l'Acad. d'Agr. de France.* T. 6, p. 762. Paris. 1920.
VILCOQ. — Le cuivre dans la lutte contre le coquelicot au milieu du blé. *C. R. des Scé. de l'Acad. de l'Agric. de France.* T. 7, p. 640. Paris. 1921.
VERVORRN. — Der Kornige Zerfall. Ein Beitrag zur Physiologie des Todes. *Arch. Ges. P. Cys.* 1896.
VOINOV. — Sur l'existence d'un chondriome. *Soc. de Biol.* Paris. 1916.

Vries (H. de). Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolem. *Iahrb. f. Wiss. Bot.* 1885.
— Ueber die Aggregation in Protoplasma von « Drosera rotundifolia ». *Bot. Zeitg.* 1886.
— De la force attractive entre les matières solubles et l'eau dans les solutions diluées. *Ann. Agro.* T. 10, p. 141. — *C. R. Acad. des Sciences.* T. 47, p. 1083.
Teodorescu (E.-C.). — Influence de l'acide carbonique sur la formation et la structure des plantes. *Rev. Gén. de Bot.* T. 2, p. 445.
Terroine (E.-F.). — L'énergie de croissance. *Bull. Soc. chim. Biol.* P. 357. Paris. 1924.
— L'énergie de croissance. — *Bull. Soc. chim. Biol.* P. 351. Paris. 1925.
Tomas (P.). et Carpantier (G.). — Action des divers sels métalliques, et en particulier des sels de cuivre, sur le réactif de Kestler-Meyer. *Bull. Soc. de Chim. Biol.* T. 4, p. 143. Paris. 1922.
Tschirch et Kristzler (H.). — Mikrochemische Untersuchungen ub. d. Aleuron-Korner. *Ber. pharm. Gesell.* Bd. 10. 1910.
Tswett. — Etudes de physiologie cellulaire. *Arch des Sci. Natur.* Genève. 1896.
— Sur la membrane périplasmique. *Journ. de Bot.* 1899.
Tunmann (O.). —Pflanzensmikrochemie. *Borntrager.* Berlin. 1913.
Wager et Peniston. — Cytological observations on the Yeat-plant. *Ann. of. Botany.* T. 24. 1910.
Wakker (J.). — Studien über die inhaltskorper der Pflanzenzelle *Iahrb. f. Wiss. Bot.* Bd. 19, p. 423. 1888.
Weiss. — Unters. über die Entwicklungsgeschichte der Farb stoffers in Pflanzenzellen. *Sitzb. d. Wien. Acad.* 1864 und 1866.
Werminski (P.). — Ueber die Natur der Aleuronkorner. *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.* Bd. 6, p. 199.
Went. — Die Vermehrung der normalen vacuolen durch Teilung. *Iahrb. f. Wiss. Bot.* 1888.
— Die vacuolen in den Fortplanzungzellen der Algen. *Bot. Zeit.* 1889.
Wiesner. — Untersch. die organisations die vegetabilischen Zellhaut. *Sitz d. Kais. Ak. d. Wiss. zu Wien.* 1886.
— Versuch einer Erklarung des Wachstum des Pflanzenzelle. *Sitz. d. Kais. Ak. d. Wiss. zu Wien.* 1890.
— Die Elementarstruktur und Wachstum der lebenden substanz. *Wien.* 1892.
Winifred (E.) and Brenchley. — Inorganique Plant Poisons and stimulants. *Cambridge.* 1914.
Wolff et Fernbach. — Sur la coagulation de l'amidon. *C. R. Acad. des Sci.* T. 137, p. 718. Paris. 1903.
Wurmuser. — L'energetique et la Biochimie. *Bull. Soc. Chim. Biol.* T. 5, p. 506. Paris. 1923.

Zacharias. — Ueber kinoplasma. *Verh. Ges. Deutsch. Naturf.* 1902.
Zimmerman. — Die Botanische Mikrotechnik. *Tübingen.* 1892.
Zlataroff. — Ueber das Altern der Pflanzen. Zeitsch. f. Allg. Physiologie. *Ann. de l'Univ. de Sofia.* T. 18. 1916.
— Etudes phytobiochimiques. *Ann. de l'Univ. de Sofia.* T. 18. 1917.
— Autour d'une théorie sur la vie. *Ann. de l'Univ. de Sofia.* T. 22. 1926.

TABLE DES MATIÈRES

Pages.

Introduction 9

Historique 15

Indications techniques 33

Solutions plasmolysantes, durée de contact entre l'objet à étudier et le milieu 51

Fixation du Chondriome et du Cytoplasme 60

Résultats et discussions de nos résultats 71

Les Spirogyres 80

Étude de la cellule d'*Allium Cepa* 87

Cellule épidermique de la feuille de *Vitis Vinifera* 94

Cellules d'*Elodea Canadensis* 101

Interprétation cytologique de la Plasmolyse 105

Résumé et Conclusions générales 193

Bibliographie 205

PLANCHE I

Fig. 1

Influence du réactif. Iodure de K. à 2 °/₀ sur la cellule *d'Allium cepa*. Le chondriome est transformé en vésicules. Dans les cellules agées il détermine une structure alvéolaire du cytoplasme et même sa coagulation par places. Le noyau apparaît fortement contracté.

Fig. 2

Influence du réactif. Iodure de K. à 2 °/₀ et acide chromique à 2 °/° solution aqueuse à parties égales : sur la cellule *d'Allium cepa*. Le chondriome est bien fixé, il se détache nettement par sa coloration plus ou moins brun foncé. Sur un cytoplasme très finement granuleux, coloré en jaune pâle. Le noyau prend une coloration brun acajou, en outre il est très bien fixé.

Fig. 3

Cellule *d'Allium cepa* au milieu isotonique saccharose 7,4 °/₀. Coloration du chondriome par le vert janus.

Dans toutes les figures, sauf dans celle de la planche VII et dans le dessin 8 de la planche III, l'épaisseur de la membrane cellulaire n'a pas été représentée.

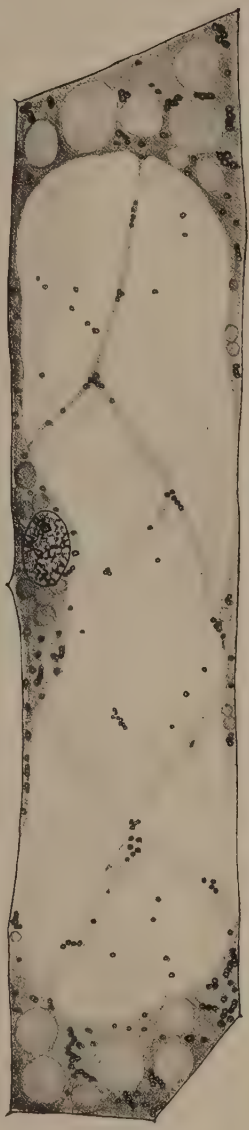


Fig. 1

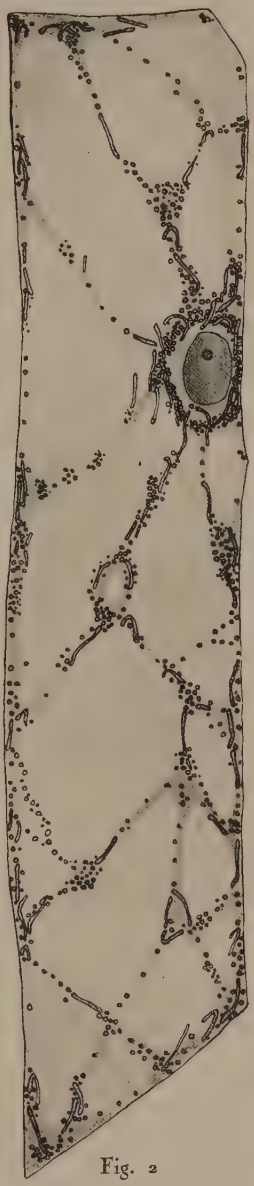


Fig. 2

Fig 3

J. S. MICHALESCOS, del.

PLANCHE II

Fig. 4

Cellule *d'Allium cepa*. Influence du formol à 20 %. Le chondriome est sensiblement gonflé, dans certaines cellules il présente même une forme vésiculeuse. Le cytoplasme présente un aspect alvéolisé. Le noyau est fortement gonflé.

Fig. 5

Cellule *d'Allium cepa*. Influence du mélange Bouin-Duboscq-Brasil. Le noyau est très bien fixé, malgré sa légère contraction. Le cytoplasme présente un aspect finement granuleux. Le chondriome est profondement altéré, en donnant des plaques qui se colorent diffusément et même parfois fortement par l'hématoxyline ferrique.

Fig. 6

Cellule *d'Allium cepa*. Première phase de la plasmolyse, sous l'impulsion de l'excitation, reçue de l'extérieur, et grâce au commencement de déshydratation de la vacuole. Le cytoplasme commence à quitter les parois cellulaires.

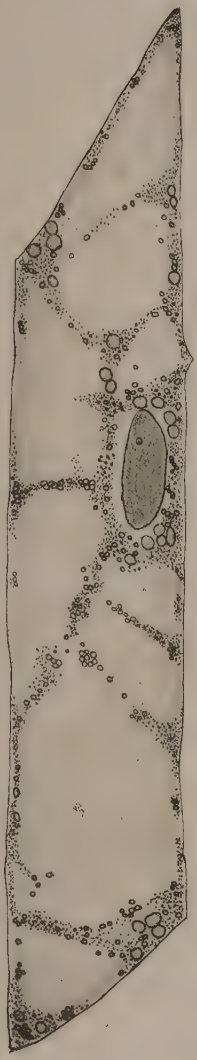


Fig. 4

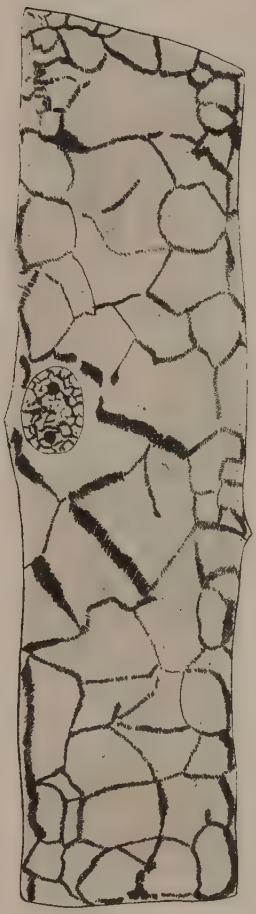


Fig. 5

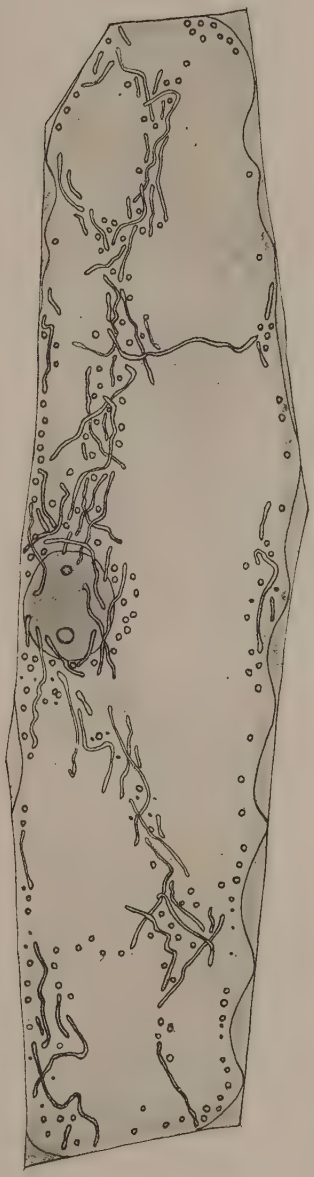


Fig. 6

J. S MICHALESCO, del.

PLANCHE III

Fig. 7

Cellule de *Spirogyra orbicularis* plasmolysée. Fragments du chromotophore. Le cytoplasme a quitté les parois cellulaires tout en restant en contact avec elles par de fins trabécules. Le peu de cytoplasme perinucléaire est relié au cytoplasme pariétal et certains corpulscules, d'ailleurs très mal définis, appelés « pirénoïdes », par deux sortes de trabécules. La cellule dans cette phase est fortement gonflée.

Fig. 8

Cellule de *Spirogyra flavescens*. Non plasmolysée. Coupe à 1 μ.

Fig. 9

Cellule de *Spirogyra orbicularis*. Cellule plasmolysée. Aspect du cytoplasme pariétal.

Fig. 10

Cellule de *Spirogyra flavescens*. Cellule plasmolysée. Aspect du noyau et des trabécules qui relient le cytoplasme périnucléaire et le cytoplasme pariétal. Le chondriome est représenté dans ces cellules par de minuscules mitochondries bâtonneuses.

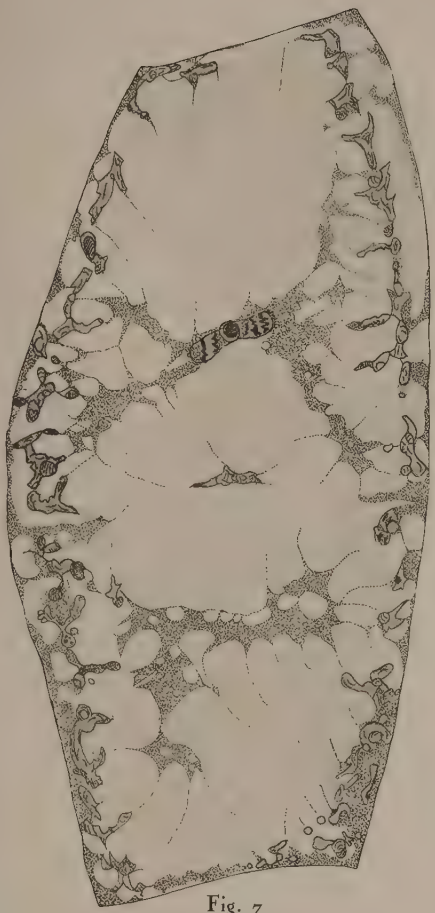


Fig. 7

Fig. 8

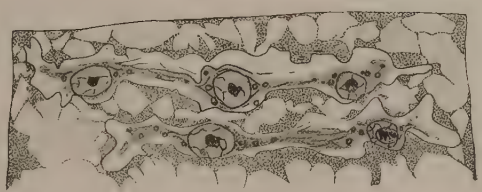


Fig. 9

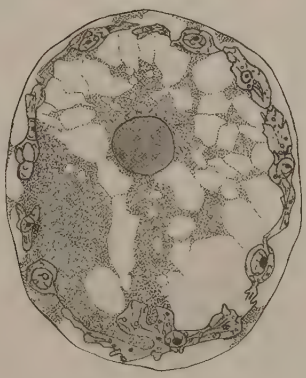


Fig. 10

J. S. MICHALESCO, del.

PLANCHE IV

Fig. 11

Cellule de *Vitis vinifera*. Non plasmolysée. Fixation Champy, coloration selon Küll. Coupe à 2 μ.

Fig. 12

Cellule *d'Élodea canadensis*. Fixation par la méthode IV de Regaud, coloration selon Heidenhain à l'hématoxyline ferrique. Coupe à 2 μ.

Fig. 13

Cellule de *Vitis vinifera*. Milieu isotonique. Coloration vitale du chondriome par le vert janus.

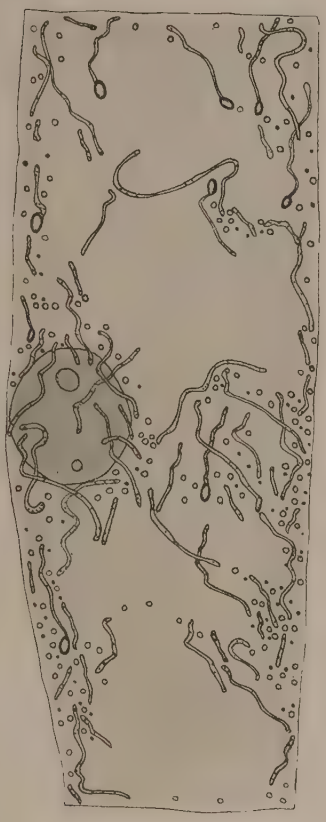


Fig. 11

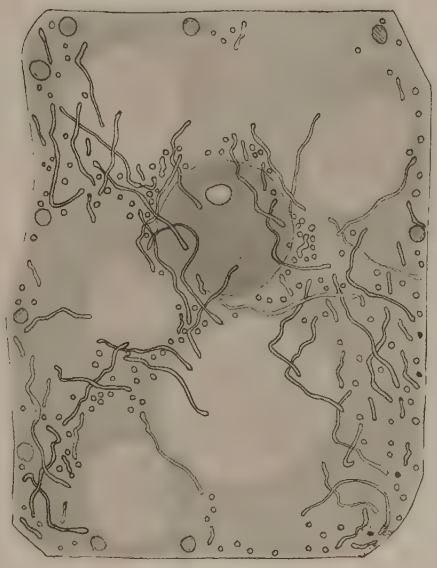


Fig. 12

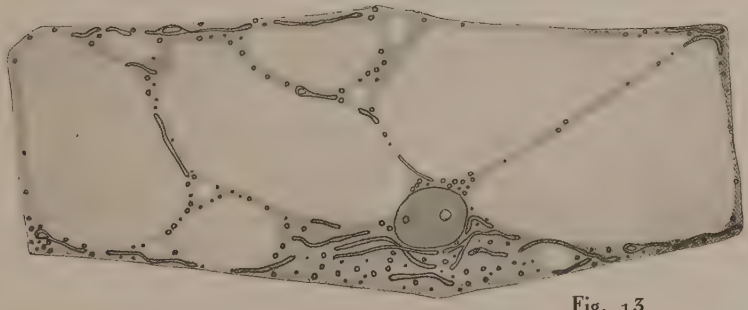


Fig. 13

J. S. MICHALESCO, del.

PLANCHE V

Fig. 14, 15, 16 et 17

Cellules d'*Allium cepa*. Divers aspects de cellules plasmolysées dans un milieu hypertonique obtenu par dissolution de sels de cuivre, dont la concentration varie entre 5 et 2 p. 100.

Le protoplaste à quitté les parois cellulaires. Tout en restant en contact avec elles par deux sortes de trabéculs ; les premiers ne renferment jamais de chondriome se dichotomisent en arrivant près des parois. Les seconds tractus, plus épais renferment du chondriome, semblent être des plasmodesmes.

Segmentation de la vacuole ; qui est colorée intensivement par le rouge neutre. La cellule est vivante car elle ne prend pas l'éosine qui ne colore d'ailleurs d'un rose effacé que l'espace situé entre le contour du protoplaste et les parois cellulaires.

Le chondriome est sensiblement aminci. Le noyau n'a subi aucune altération apparente.

Pl. 5

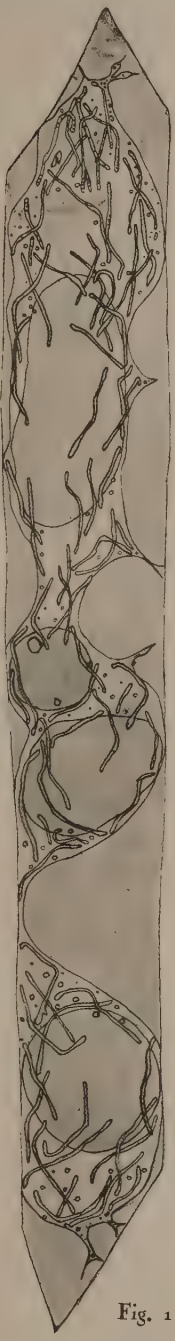


Fig. 14

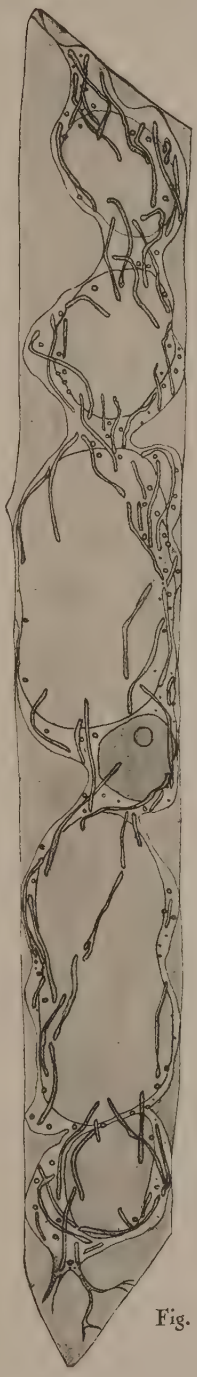


Fig. 15

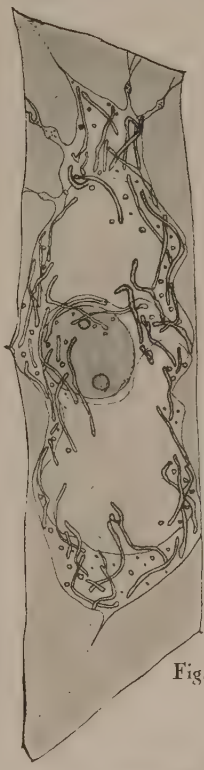


Fig. 16

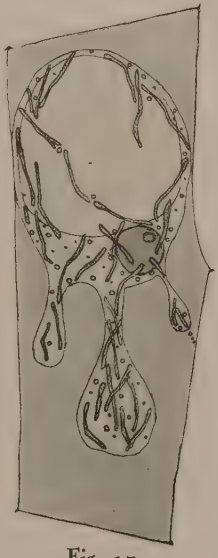


Fig. 17

J. S. MICHALESCO, del.

PLANCHE VI

Fig. 18

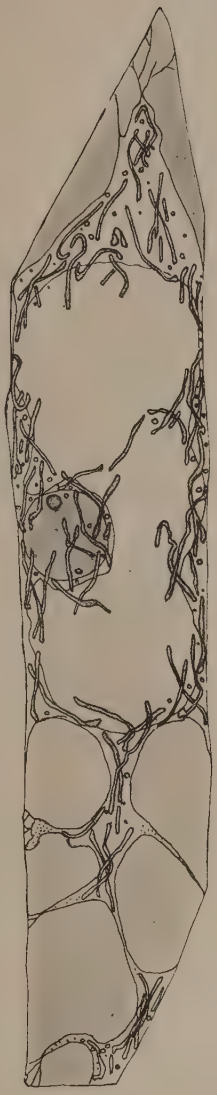
Un autre aspect d'une cellule plasmolysée par une solution forte de sels de cuivre.

Fig. 19 et 20

Aspect d'une cellule d'*Allium cepa*, plasmolysée par des solutions faibles des sels de cuivre, à 1 p. 50.000 et 1 p. 1.000.000.

Le chondriome est transformé en boules vésiculeuses et il montre les inclusions graisseuses localisées sur son trajet (solution aqueuse d'acide osmique à 1 p. 100).

Le cytoplasme se décompose en boules sarcodiques ; il a pris une structure alvéolaire due à une énergique déshydratation.



Fig, 18

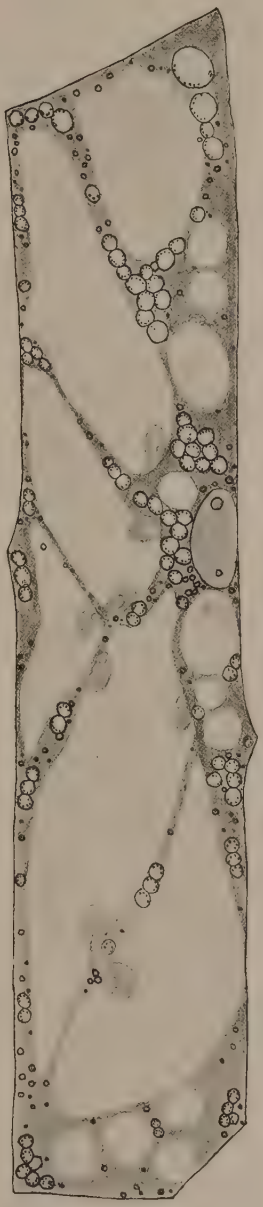


Fig. 19

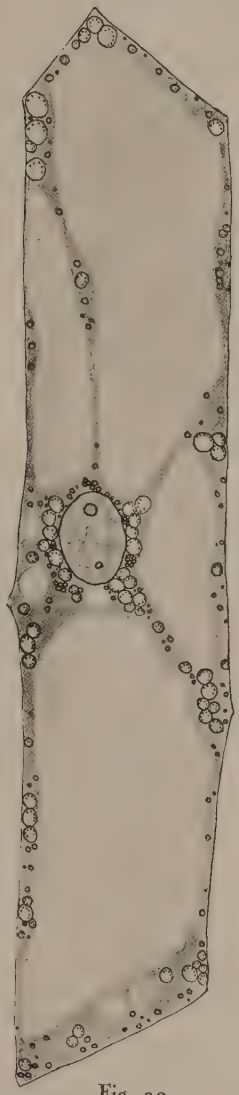


Fig. 20

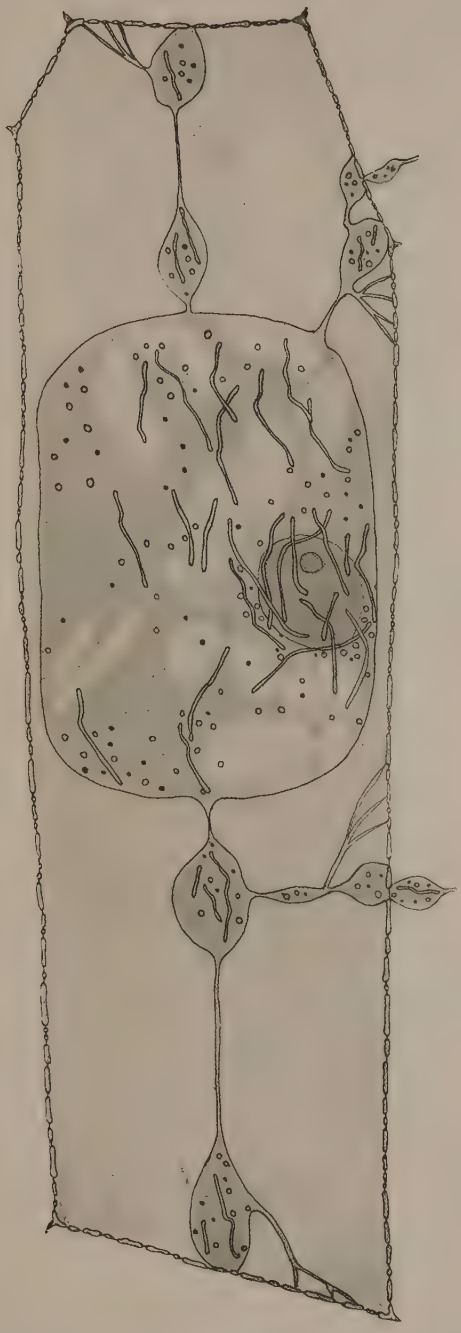
J. S. MICHALESCO, del.

PLANCHE VII

Fig. 21

Cellule *d'Allium cepa*, plasmolysée par une solution de sulfate de cuivre à 4 %. La membrane des parois cellulaires n'est pas une surface continue, elle est percée d'interstices. Le protoplaste a quitté complètement les parois parce qu'il suivi la déshydratation de la vacuole, qui se colore fortement par le rouge neutre. Le protoplaste ainsi contracté sous forme d'une masse arrondie est resté en contact avec les parois cellulaires par deux sortes de tractus. Les premiers ne renferment jamais de chondriome, et se dichotomisent en arrivant près des parois. Ils prennent leur point d'attache sur les parties épaisses de la membrane ; les seconds ne se dichotomisent jamais, renferment du chondriome sont en liaison avec les tractus semblables des cellules voisines. Ces derniers semblent bien être des plasmodesmes.

Le cytoplasme est décomposé en boules sarcodiques qui donnent à la cellule un aspect alvéolaire. Le chondriome est sensiblement aminci, et il est fortement coloré par le vert janus. Le noyau est légèrement contracté. La cellule est vivante car elle ne prend pas l'éosine qui ne colore que d'un rose plus ou moins effacé la surface limitée d'une part par les parois cellulaires et d'autre part par le protoplaste ainsi contracté.



J. S. MICHALESCO, del.

Fig. 21

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1. *Les Protéines et les Théories nouvelles sur les Protéines : Théorie colloïdale.*

2. *Le Tchernozioum et ses Corrélations avec le Sous-Sol.*